GE Healthcare

ÄKTApurifier

Benutzerhandbuch

ÄKTA™

Wichtige Hinweise für den Benutzer

Alle Benutzer müssen das gesamte Handbuch vollständig durchlesen, damit die sichere Benutzung des ÄKTApurifier™ gewährleistet werden kann.

WARNUNG!

Das Warnsymbol macht auf eine Anweisung aufmerksam, die zur Vermeidung von Verletzungen strengstens eingehalten werden muss. Fahren Sie erst mit der Arbeit fort, wenn Sie ganz sicher sind, dass die Anweisungen eindeutig verstanden wurden und alle vorgeschriebenen Voraussetzungen erfüllt sind.

VORSICHT!

Das Vorsichtzeichen signalisiert Anweisungen oder Bedingungen, die zur Vermeidung von Schäden am Produkt oder an anderen Geräten befolgt werden müssen. Fahren Sie erst mit der Arbeit fort, wenn Sie ganz sicher sind, dass die Anweisungen eindeutig verstanden wurden und alle vorgeschriebenen Voraussetzungen erfüllt sind.

Hinweis!

Das Hinweiszeichen macht auf wichtige Informationen für den problemlosen und optimalen Gebrauch des Produkts aufmerksam.

CE-Kennzeichnung

Dieses Produkt erfüllt alle Anforderungen der geltenden CE-Richtlinien. Auf Anfrage ist eine Kopie der entsprechenden Konformitätserklärung erhältlich.

Die Gültigkeit des **CE**-Symbols und der entsprechenden Konformitätserklärung für das Gerät ist von folgenden Bedingungen abhängig:

- das Instrument wird als unabhängiges Gerät verwendet oder
- es ist an andere Geräte von GE Healthcare angeschlossen, die ebenfalls mit dem CE-Symbol gekennzeichnet sind, oder
- es ist an andere in diesem Handbuch empfohlene oder beschriebene Produkte angeschlossen und
- wird in demselben Zustand verwendet, in dem es von GE Healthcare geliefert wurde. Ausgenommen davon sind die in diesem Handbuch beschriebenen Änderungen.

Inhalt

1 Einleitung

1.1 Allgemeines 7
1.2 Schilder 9
1.3 Sicherheit 10
1.4 Abfallentsorgung 12
1.5 Typografische Konventionen 13

2 Installation

2.1 Allgemeines 15
2.2 Voraussetzungen 17
2.3 Installation des ÄKTApurifier 18
2.4 Installationstest 32
2.5 Testprotokoll 42
2.6 Registrationsformular 43

3 Systemüberblick

3.1 Trenneinheit 45
3.2 Säulen und Kapillaren 48
3.3 UNICORN-Software 49

4 Betrieb

4.1 Inbetriebnahme des Systems 54
4.2 Erstellen einer Methode 55
4.3 Fraktionssammlung 60
4.4 Probenaufgabe 63
4.5 Vorbereiten des Systems für einen Lauf 70
4.6 Starten eines Laufs 73
4.7 Während eines Laufs 78
4.8 Anzeigen und Ausdrucken des Ergebnisses 83
4.9 Abschluss eines Laufs und Lagerung 89
4.10 Betrieb im Kühlraum 89

5 Optionale Funktionen

5.1 Mischen von Gradienten 91
5.2 BufferPrep 92
5.3 Scouting 99
5.4 Zusätzliche Systemdruckmessung 101
5.5 Durchflussregelung 102

6 Wartung

6.1 Regelmäßige Wartung 105
6.2 Reinigen der Oberfläche des Systems 109
6.3 Reinigen des Systemströmungsweges 110
6.4 Kalibrierungsverfahren 111
6.5 Transportieren des Systems 112

7 Fehlerbehebung

7.1 Fehler und Maßnahmen 113
7.2 UV-Kurve 114
7.3 Druckkurve 115
7.4 Leitfähigkeitskurve 115
7.5 Pumpe P-900 117
7.6 UV-900-Monitor 118
7.7 UPC-900-Monitor 118
7.8 Mischer M-925 119
7.9 Ventil INV-907 119
7.10 BufferPrep 120

8 Referenzinformationen

8.1 Systembeschreibung 123
8.2 Komponentenbeschreibung 137
8.3 Optionale Konfigurationen 141
8.4 Empfohlene Kapillaren und Säulen 142
8.5 Einzelheiten zu BufferPrep 153
8.6 Technische Spezifikationen 161
8.7 Chemische Beständigkeit und chemische Verträglichkeit 168
8.8 Bestellinformationen 171

Stichwortverzeichnis 179

Zu diesem Handbuch

Dieses Handbuch beschreibt den Betrieb des ÄKTA™purifier und ÄKTApurifier™ UPC, 10 und 100. Sofern nicht im Text ausdrücklich angegeben, ist die Beschreibung für alle diese Systeme gleich. Die wenigen Unterschiede werden mit unterschiedlicher Schriftart hervorgehoben.

Sie finden auch eine Beschreibung der Installation, des Systems, Anweisungen zur Systemwartung und Fehlerbehebung in diesem Handbuch.

1 Einleitung

1.1 Allgemeines

ÄKTA™purifier ist ein automatisiertes Flüssigkeitschromatographiesystem zur Verfahrensentwicklung und für Forschungsanwendungen. Das System vereinfacht den Übergang von der Herstellung im Labor zur Großfertigung. Die Maßstabsvergrößerung für die Produktion ist vorhersehbar und problemlos. Zwei Versionen sind erhältlich: ÄKTApurifier™ mit UV-900-Monitor für Mehrwellenlängen-Detektion und ÄKTApurifier UPC mit UPC-900-Monitor für eine kombinierte Messung von UV-Absorption, pH-Wert und Leitfähigkeit.

Hinweis: *Wenn die Anweisungen oder Spezifikationen für beide Modelle ähnlich sind, wird nur die Bezeichnung ÄKTApurifier gewählt*.

Funktionen des ÄKTApurifier:

- Durchflussgeschwindigkeiten bis zu:
  - – ÄKTApurifier 100 (P-901): 100 ml/min bei einem Druck von bis zu 10 MPa.
  - – ÄKTApurifier 10 (P-903): 10 ml/min bei einem Druck von bis zu 25 MPa.
- BufferPrep für eine schnelle Optimierung des pH-Wertes.
- Eine Arbeitsplattform für die meisten Flüssigkeitschromatographiemethoden vom Mikrogramm- bis zum Grammmaßstab.

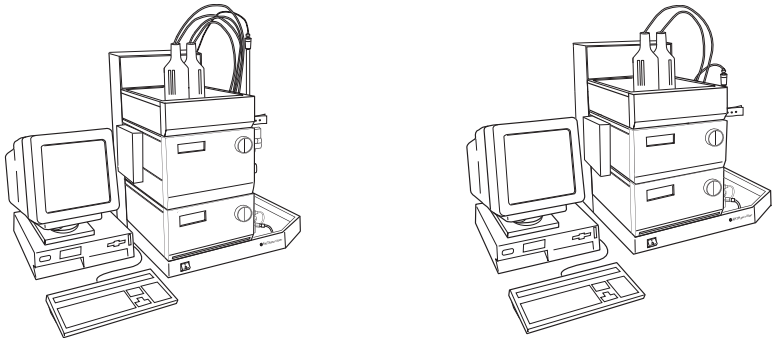


Abb. 1-1. Links ÄKTApurifier und rechts ÄKTApurifier UPC

Der ÄKTApurifier besteht aus einer kompakten Trenneinheit, einem Computer mit UNICORN™-Steuerung, Version 5.01 oder höher, und als Option:

- einem Fraktionssammler und
- einem Monitor zur Messung des pH-Wertes und der Leitfähigkeit (nicht bei ÄKTApurifier UPC).

Das Chromatographiesystem wird im Abschnitt *8.1* unter *„Systembeschreibung"* ausführlich beschrieben. Eine kurze Beschreibung der einzelnen Komponenten finden Sie im Abschnitt *8.2* unter *„Komponentenbeschreibung"*. Ausführliche Informationen zu den Komponenten finden Sie in den entsprechenden User Manuals und Instructions. Die UNICORN-Steuerung wird im separaten UNICORN User Manual beschrieben.

Die folgende Abbildung zeigt die Lage der Module und Komponenten der Trenneinheit.

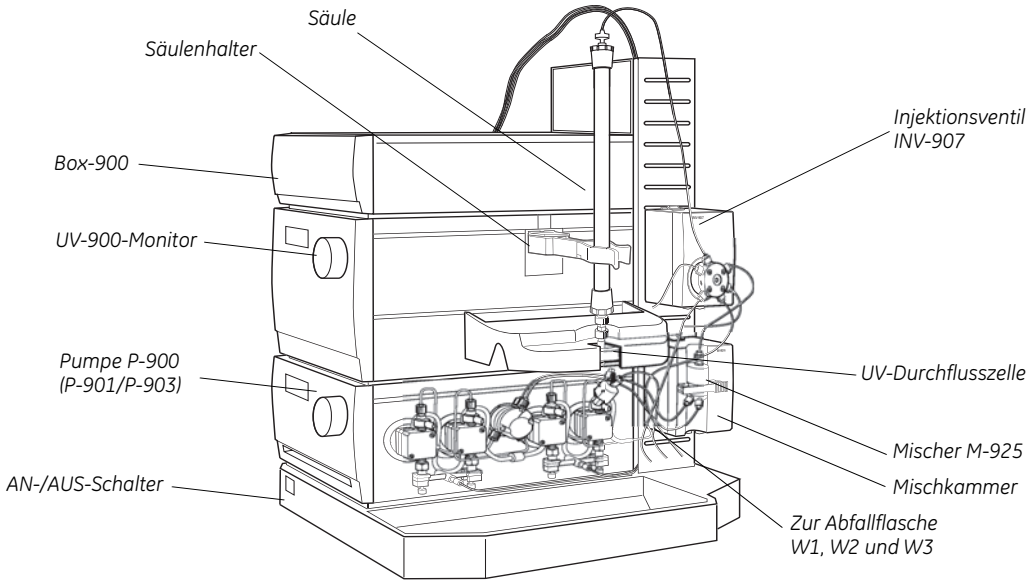


Abb. 1-2. ÄKTApurifier

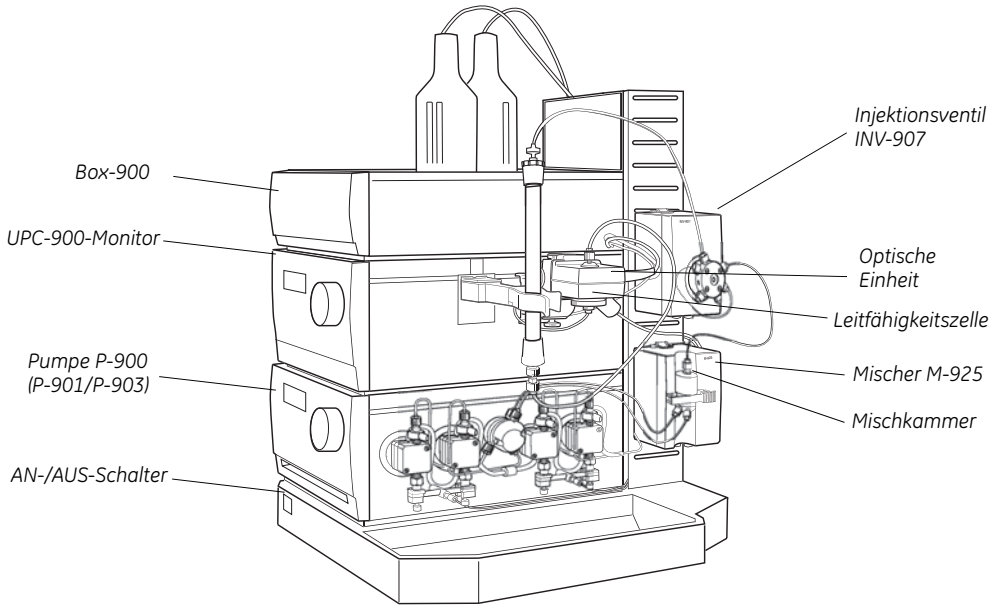


Abb. 1-3. ÄKTApurifier UPC

1.2 Schilder

An der Innenseite des Gestells an der Rückseite des Systems sind Schilder angebracht. Das Schild mit den elektrischen Anschlusswerten befindet sich von hinten gesehen links und die Kennzeichnungsschilder rechts.

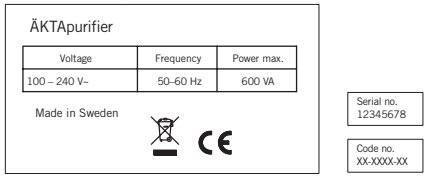


Abb. 1-4. Das Schild mit den elektrischen Anschlusswerten und die Kennzeichnungsschilder am ÄKTApurifier

1.3 Sicherheit

- Das System ist ausschließlich für den Betrieb in geschlossenen Räumen konzipiert.
- Verwenden Sie es nicht in staubiger Umgebung oder in der Nähe von Spritzwasser.
- Betreiben Sie das Gerät entsprechend den vor Ort geltenden Sicherheitsbestimmungen.
- Blockieren Sie nicht den Lufteinlass an der Vorderseite oder die Auslasse an der Rückseite des Instruments.

WARNUNG! Dieses Instrument ist nur für die Verwendung im Labor, nicht für klinische oder *In-vitro*-Zwecke bestimmt.

WARNUNG! Das System muss an eine geerdete Netzsteckdose angeschlossen sein, um zu verhindern, dass Teile des Systems zu stromführenden Teilen werden.

WARNUNG! Die Abdeckungen der Module und Komponenten dürfen vom Benutzer nicht entfernt werden. Die Module und Komponenten können Hoch spannungskreise enthalten, die einen tödlichen Elektroschock verursachen können.

WARNUNG! Die optischen Einheiten des UPC-900-Monitors und des UV-900-Monitors verwenden intensitätsstarkes ultraviolettes Licht. Demontieren Sie die optische Einheit nicht, solange die Lampe AN ist.

WARNUNG! Nicht korrekt befestigte Kapillaren können sich lockern und dazu führen, dass Flüssigkeit herausspritzt. Dies ist besonders riskant, wenn gefährliche Chemikalien verwendet werden. Zum Anschluss einer Kapillare wird diese vollständig eingeführt und das Verbindungsstück mit der Hand festgezogen. PEEK-Kapillaren sollten mit dem mitgelieferten Schlüssel eine weitere 1/4-Drehung angezogen werden. Ziehen Sie Teflon™-Kapillaren nicht weiter fest, da hierdurch das Kapillarende beschädigt wird.

WARNUNG! Stellen Sie niemals Abfallbehälter oben auf das System. Wenn diese voll sind und überlaufen, könnte Flüssigkeit in das System eindringen und so einen Kurzschluss verursachen.

WARNUNG! Bei Wartungsmaßnahmen muss vor dem Austausch von Systemkomponenten immer die Stromzufuhr unterbrochen werden.

WARNUNG! Für Notfälle muss der Netzschalter des Systems immer gut zugänglich sein und der Netzstecker muss immer leicht zu trennen sein.

WARNUNG! Der Computer muss an einem trockenen Ort und entsprechend den in den Herstelleranweisungen genannten Umgebungsanforderungen aufgestellt werden.

WARNUNG! Ergreifen Sie bei der Verwendung von gefährlichen Chemikalien alle geeigneten Schutzmaßnahmen, z. B. Tragen von Schutzbrillen und Handschuhen, die gegenüber den verwendeten Chemikalien resistent sind. Befolgen Sie alle vor Ort geltenden Vorschriften und Anweisungen zum sicheren Betrieb und zur Wartung des Systems.

WARNUNG! Verwenden Sie für die Wartung oder Instandsetzung des Systems ausschließlich die von GE Healthcare gelieferten oder genehmigten Ersatzteile.

WARNUNG! Verwenden Sie ausschließlich von GE Healthcare gelieferte Verschlauchungen, um sicherzustellen, dass die Druckvorgaben der Verschlauchungen erfüllt werden.

WARNUNG! Werden gefährliche Chemikalien verwendet, so ist vor der Durchführung von Instandhaltungs- und Wartungsmaßnahmen das gesamte System gründlich mit bakteriostatischer Lösung (z.B. NaOH) und destilliertem Wasser durchzuspülen.

WARNUNG! Für den dauerhaften Schutz vor Brandgefahr ersetzen Sie Sicherungen nur mit solchen der vorgegebenen Art und Leistung. Daten zu den Sicherungen siehe *„Referenzinformationen“*.

WARNUNG! Wenn das System gedreht wird oder der Fraktionssammler entfernt wird, können sich externe Kapillaren und andere Verschlauchungen in nahe gelegenen Gegenständen verheddern und von ihren Anschlüssen gezogen werden, was zu Undichtigkeiten führt.

WARNUNG! Es muss immer eine Probenschleife oder ein Superloop™ an den Ports 2 und 6 des Injektionsventils angeschlossen sein. Dadurch wird verhindert, dass Flüssigkeit aus den Ports spritzt, wenn das Ventil gewechselt wird. Dies ist besonders riskant, wenn gefährliche Chemikalien verwendet werden.

Wenn eine Probenpumpe für die Probenaufgabe direkt auf die Säule verwendet wird, muss eine Leitung zwischen den Ports 3 und 6 am Injektionsventil angeschlossen sein.

WARNUNG! Superloop 10 ml und Superloop 50 ml dürfen nicht bei Drücken über 4 MPa (40 bar, 580 psi) verwendet werden. Superloop 150 ml darf nicht über 2 MPa (20 bar, 290 psi) verwendet werden. Bei höheren Drücken könnte das Glasrohr zerspringen.

WARNUNG! Verwenden Sie niemals Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm oder kleiner mit Säulen, die nur einem geringen Höchstdruck standhalten und die hohe Durchflussgeschwindigkeiten ermöglichen, da die Säulen zerbrechen können, was zu Verletzungen führen kann.

WARNUNG! Verwenden Sie im ÄKTApurifier 100 niemals Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,50 oder 0,75 mm oder kleiner zusammen mit Säulen, die nur einem geringen Höchstdruck standhalten und die hohe Durchflussgeschwindigkeiten erlauben, da die Säulen zerbrechen könnten, was zu Verletzungen führen kann.

WARNUNG! Versuchen Sie niemals, die Netzsicherung zu entfernen, wenn das System mit Netzspannung versorgt wird. Für den dauerhaften Schutz vor Brandgefahr ersetzen Sie Sicherungen nur mit solchen der vorgegebenen Art und Leistung.

Daten zu den Sicherungen siehe Technische Spezifikationen.

1.4 Abfallentsorgung

Dieses Symbol zeigt an, dass elektrische und elektronische Komponenten nicht als unsortierter Hausmüll entsorgt werden dürfen, sondern getrennt entsorgt werden müssen. Wenden Sie sich an einen autorisierten Vertreter oder den Hersteller, wenn Sie Informationen über die Außerbetriebnahme Ihrer Ausrüstung benötigen.

1.5 Typografische Konventionen

Menübefehle, die Bezeichnungen der Felder und Aufforderungen in Dialogfeldern sind im Text ***fett und kursiv*** dargestellt. Ein Doppelpunkt trennt Menüebenen, ***File:Open*** bezieht sich also auf den Befehl ***Open*** im Menü ***File***.

Angaben zur Hardware wie zum Beispiel die Bezeichnungen von Tasten auf der Tastatur, Tastenkombinationen, Tastenfolgen, Bezeichnungen von Hardkeys am Gerät und Bezeichnungen von Anschlussports sind im Text **fett** dargestellt.

2 Installation

2.1 Allgemeines

ÄKTApurifier wird vor der Auslieferung montiert und umfassend getestet. Um einen sicheren Transport zu gewährleisten wurden jedoch einige Komponenten gesichert und müssen daher gelöst werden, bevor das System getestet und verwendet werden kann. Kabel, Kapillaren, Zubehörteile, Säulenhalter etc. sind in Kartons verpackt und beigelegt.

In diesem Kapitel wird beschrieben, wie der ÄKTApurifier installiert wird. Es ist in zwei Teile aufgeteilt. Ein Teil beschreibt die Installation, der andere beschreibt, wie der Installationstest durchgeführt wird. Wenn der Installationsvorgang durchgeführt wurde, ist Ihr ÄKTApurifier bereit für Reinigungsarbeiten.

Hinweis: *Zwei Versionen sind erhältlich: ÄKTApurifier mit UV-900-Monitor für Mehrwellenlängen-Detektion und ÄKTApurifier UPC mit UPC-900-Monitor für eine kombinierte Messung von UV-Absorption, pH-Wert und Leitfähigkeit. Wenn die Anweisungen oder Spezifikationen für beide Modelle ähnlich sind, wird nur die Bezeichnung ÄKTApurifier verwendet.*

Der Installationstest kann in regelmäßigen Abständen durchgeführt werden, zum Beispiel um die Förderleistung des Pumpensystems und die UV-Detektion Ihres ÄKTApurifier-Chromatographiesystems zu prüfen.

Für Einzelheiten zu Spezifikation, Verfahren, Wartung etc. siehe User Manuals und Instructions der Komponenten.

2.1.1 Überblick über den Installationsvorgang

- ÄKTApurifier auspacken *18*
- Gesicherte Teile lösen und beigelegte Teile installieren *18*
- Computer auspacken und installieren *25*
- pH/C-900 installieren *22*
- Frac-920 oder Frac-950 installieren *25*
- UniNet™-1-Datenübertragungskabel anschließen *29*
- Netzkabel anschließen *30*
- Die ersten zwei Abschnitte des Installationsprotokolls ausfüllen *31*
- ÄKTApurifier für den Installationstest vorbereiten *33*
- Installationstest durchführen *36*
- Gradienten auswerten *40*
- Stufengradient auswerten *40*
- UV-Detektion auswerten *42*
- Testprotokoll ausfüllen *42*
- Registrierungsformular ausfüllen *43*
- Den letzten Abschnitt des Installationsprotokolls ausfüllen *31*
- Fotokopien aller Protokolle und Formulare im Systemlogbuch aufbewahren

2.2 Voraussetzungen

WARNUNG! ÄKTApurifier muss an eine geerdete Netzsteckdose angeschlossen sein.

- Zwei Personen sind nötig, um ÄKTApurifier auf den Arbeitstisch zu heben.
- Das System sollte auf einem stabilen Labortisch, der eine angemessene Arbeitsfläche bietet, installiert werden. Für die Installation des ÄKTApurifier wird eine Arbeitsfläche von ca. 200 x 80 cm benötigt. Der Netzschalter des Systems muss immer gut zugänglich sein und der Netzstecker muss immer leicht zu trennen sein.
- Das Gerät benötigt einen angemessenen freien Raum, damit eine korrekte Belüftung sichergestellt ist. Blockieren Sie nicht den Lufteinlass an der Vorderseite oder die Auslasse an der Rückseite des Instruments!
- ÄKTApurifier benötigt eine Stromversorgung mit 100–120/220–240 V~, 50–60 Hz mit Sicherheitserdung.
- Ein Seitenschneider wird zum Zerschneiden der Plastikbänder empfohlen.
- Eine Abfallflasche.
- Für den Installationstest werden die folgenden Lösungen benötigt:
  - 1000 ml destilliertes Wasser zum Füllen und Entlüften der Pumpe.
  - 200 ml destilliertes Wasser.
  - 200 ml 0,4 %-iges Aceton in destilliertem Wasser.
  - 100 ml 20 %-iges Ethanol in destilliertem Wasser.

2.3 Installation des ÄKTApurifier

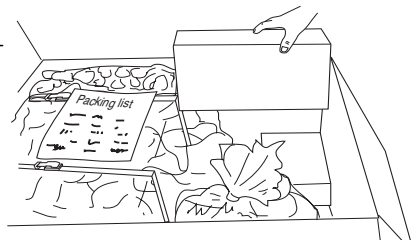
Schaffen Sie eine saubere und trockene Arbeitsfläche der Größe 200 x 80 cm, die leicht zugänglich ist. Folgen Sie den unten stehenden Anweisungen Schritt für Schritt und füllen Sie dabei das „*Installationsprotokoll*" aus, siehe Seite 32.

Hinweis: *Einige Teile sind in separaten Kartons verpackt, die mit dem System geliefert werden.*

Hinweis: *Die Kartons enthalten Packlisten.*

2.3.1 Auspacken des Systems

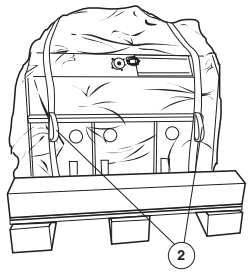
1 Entfernen Sie den Deckel des Kartons und anderes Verpackungsmaterial, vergleichen Sie dann den Inhalt mit der beigelegten Packliste. Überprüfen Sie auch alle beigefügten Kartons. Bewahren Sie alle Kartons und Kunststoffbeutel an einem geeigneten Ort in der Nähe auf.



2 Überprüfen Sie das System auf offensichtliche Schäden, die während des Transport entstanden sein könnten. Wenn Sie ÄKTApurifier UPC auspacken, fahren Sie fort mit „*Spezifisch für ÄKTApurifier UPC*".

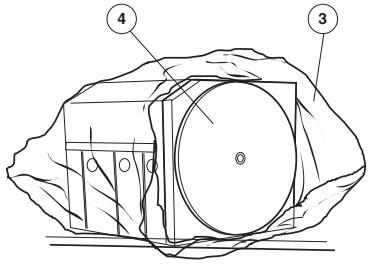
ÄKTApurifier

3 Heben Sie den ÄKTApurifier an den vier Trageschlaufen auf die Arbeitsfläche (2). Zwei Personen sind nötig, um das System hochzuheben. Stellen Sie das System noch nicht auf. Legen Sie das System auf dieselbe Seite wie auf der Palette.



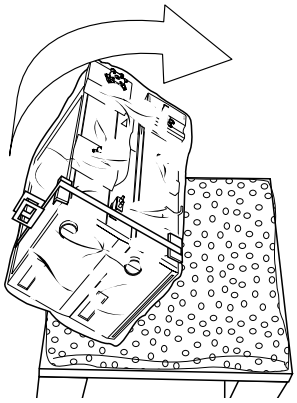
4 Lösen Sie die zwei roten Bänder mit den Trageschlaufen. Lassen Sie die Bänder auf der Kunststoffabdeckung kleben.

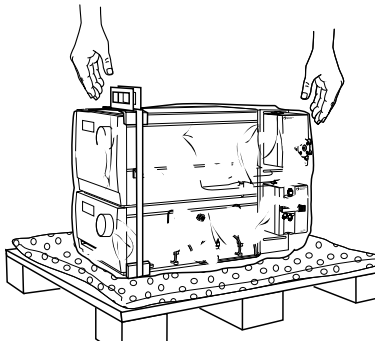
5 Ziehen Sie die Kunststoffabdeckung (3) zurück, um die drehbare Plattform (4) freizulegen, und stellen Sie das System auf.



Spezifisch für ÄKTApurifier UPC

3 Stellen Sie das System auf der Palette auf.





4 Heben Sie den ÄKTApurifier UPC auf die Arbeitsfläche, benutzen Sie dazu den Griff an der Oberseite vorne und die Aussparung unter der Montageplatte an der Oberseite hinten.

Hinweis: *Zwei Personen sind nötig, um das System hochzuheben.*

5 Schneiden Sie das Band an der Vorderseite durch und entfernen Sie den Griff und weiteres Verpackungsmaterial.

Hinweis: *Achten Sie darauf, die Kapillaren nicht zu beschädigen.*

6 Ziehen sie Kunststoffabdeckung ab, um das System freizulegen.

7 Bewahren Sie das gesamte Original-Verpackungsmaterial auf. Wenn das Gerät aus irgendeinem Grund, zum Transport oder für einen anderen Zweck wieder verpackt werden muss, ist es wichtig, dass das System mit dem Original-Verpackungsmaterial sicher verpackt werden kann.

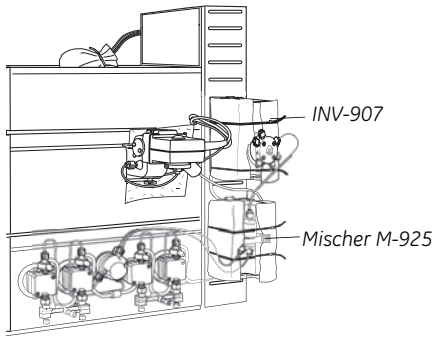
2.3.2 Auspacken der flüssigkeitsführenden Komponenten

1 Drehen Sie das System, um auf die Seite der Flüssigkeitskomponenten des Systems zugreifen zu können.

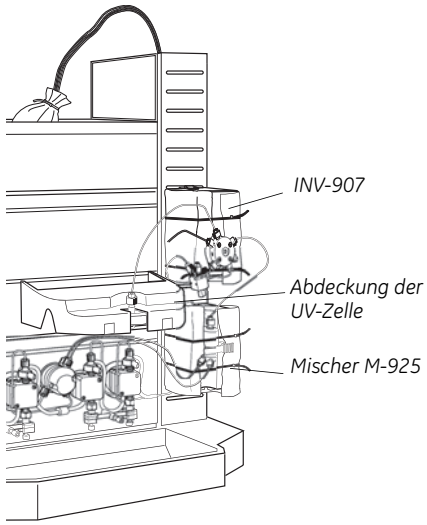
2 Lösen Sie die folgenden Teile, indem Sie die Bänder durchschneiden und das rote Klebeband entfernen. Entfernen Sie auch die Tütchen mit Trockenmittel.

Hinweis: *Verwenden Sie einen Seitenschneider. Achten Sie darauf, nicht versehentlich in die Kapillaren zu schneiden. Achten Sie darauf, keines der Beschriftungsschilder der Kapillaren zu verlieren.*

- **Ventil INV-907**, befindet sich oben rechts. Heben Sie das Ventil ab, um den Schaumstoff zu entfernen. Setzen Sie das Ventil wieder in den obersten Schlitz am Befestigungsstück ein.
- Der **Mischer M-925** befindet sich unter dem Ventil INV-907 im ÄKTApurifier. Heben Sie den Mischer ab, um den Schaumstoff zu entfernen, und setzen Sie ihn dann wieder ein.
- **Optische Einheit**. Heben Sie die optische Einheit vorsichtig ab, um den Schaumstoff zu entfernen.
- **Kapillarschleifen**. Entfernen Sie alle roten Klebebänder, die die Kapillaren und Schleifen befestigen, die am Ventil INV-907 angebracht sind.
- Die **Abdeckung der UV-Zelle** (ÄKTApurifier) befindet sich über der UV-Durchflusszelle. Entfernen Sie die roten Klebebänder.

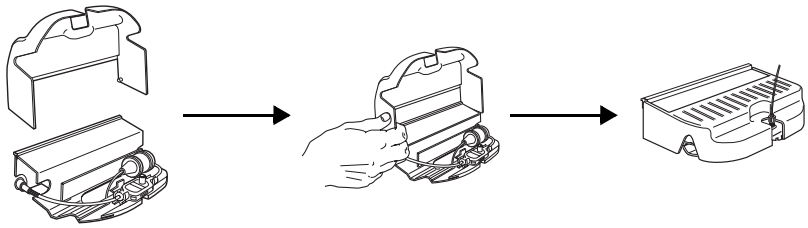


ÄKTApurifier UPC



ÄKTApurifier

Sollte sich die Abdeckung über dem Fach der UV-Zelle lösen, wird sie wie folgt wieder angebracht:



1 Die Abdeckung wird einfach auf den Zellenhalter aufgeschoben. Zwei kleine Zapfen an der Abdeckung greifen in Aussparungen an der Vorder- und Rückseite des Zellenhalters.

2 Die Abdeckung wird dann über den Zellenhalter gesenkt.

- **Abfallleitungen.** Führen Sie die mit W1, W2 und W3 markierten Abfallleitungen in eine Abfallflasche und stellen Sie die Flasche an einen geeigneten Ort.
- **Einlassleitung.** Packen Sie die Einlassleitung aus, die sich in einem Kunststoffbeutel befindet, der mit einem Klebeband an der Pufferschale an der Oberseite der Box-900 befestigt ist.
- Achten Sie darauf, dass alle Teile sicher befestigt sind und dass sich keine Kapillarverbindung gelöst oder verheddert hat.
- **Säulenhalter:**

ÄKTApurifier: Bringen Sie den Säulenhalter, der sich in der Box-900 befindet, über der UV-Zelle an. Wählen Sie einen Schlitz, der für die Höhe der zu verwendenden Säule geeignet ist.

ÄKTApurifier UPC: Wählen Sie eine Position, durch die der Abstand zwischen der Säule und der optischen Einheit minimiert wird.

2.3.3 Installieren von pH/C-900 (optional)

Der Monitor pH/C-900 ist ein Hochpräzisions-Online-Monitor zur Messung des pH-Werts und der Leitfähigkeit in der Flüssigkeitschromatographie. Der Monitor pH/C-900 ist eine Option für den ÄKTApurifier, ausführliche Beschreibungen siehe *Monitor pH/C-900 User Manual*.

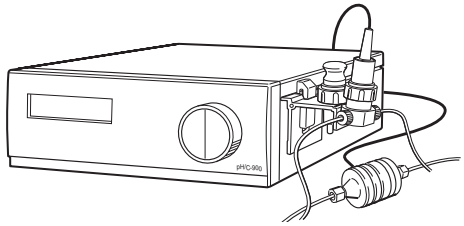


Abb. 2-1. Monitor pH/C-900

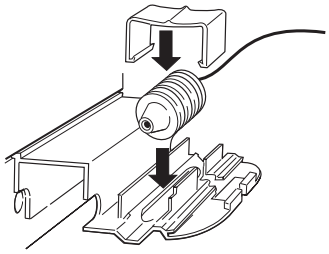
Auspacken des pH/C-900

1 Packen Sie den Monitor pH/C-900 aus und stellen Sie ihn entsprechend den Anweisungen im *Monitor pH/C-900 User Manual* auf.

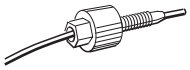
2 Stellen Sie den Monitor pH/C-900 in den ÄKTApurifier.

Installieren der Leitfähigkeitszelle

1 Setzen Sie die Leitfähigkeitszelle in ihren Zellenhalter oder an einen geeigneten Platz so nahe wie möglich an der optischen Einheit/Säule. Die Zelle kann bis zu 1,5 m vom Gehäuse des Monitors entfernt positioniert werden.



2 Schließen sie die Leitfähigkeitszelle an die Buchse **Conductivity Flow Cell** (Leitfähigkeitsdurchflusszelle) an der Rückseite des Monitors an.



3 Schließen Sie die Leitung mit den Verbindungsstücken an, die von Hand angezogen werden. Die Durchflusszelle selbst hat keine empfohlene Flussrichtung. Bei Verwendung in Verbindung mit der pH-Elektrode platzieren Sie die Leitfähigkeitsdurchflusszelle und wählen Sie ihre Durchflussrichtung so, dass das Schraubenkopfende der Durchflusszelle zur pH-Durchflusszelle zeigt (in ÄKTApurifier-Systemen ist die pH-Elektrode optional).

2.3.4 Installieren einer pH-Elektrode (optional)

Die pH-Elektrode muss in einer getrennten pH-Durchflusszelle eingebaut werden, die die pH-Elektrode selbst sowie eine Dummy-pH-Elektrode aufnimmt. Die Dummy-pH-Elektrode ersetzt die pH-Elektrode, wenn die pH-Elektrode aus dem System entfernt werden muss, z. B. zur Aufbewahrung.

Die pH-Elektrode enthält eine versiegelte Ag/AgCl-Referenz, die nicht wiederbefüllt werden kann, eine innere Elektrolytbrücke mit 4 M KCl gesättigt mit Ag/AgCl, eine äußere Elektrolytbrücke mit 1 M KNO_3, ein ringförmiges Keramik-Diaphragma und eine pH-Membran mit geringem Profil. Dies ist allgemein als versiegelter Doppeldiaphragma-Kombinationstyp bekannt. Die ph-Elektrode wird mit einer schwarzen Abdichtung geliefert.

Hinweis: *Die Durchflusszelle sollte nicht mit anderen pH-Elektroden verwendet werden.*

Hinweis: *Verwenden Sie immer den 0,50-mm-Kapillarsatz und den Durchflussbegrenzer FR-902, wenn die Durchflusszelle eingebaut wird.*

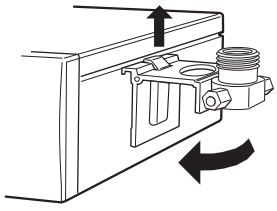
Installation

VORSICHT! Verwenden Sie niemals Kapillaren mit Innendurchmesser 0,25 mm (blau), wenn die pH-Durchflusszelle im System eingebaut ist. Die Elektrode könnte aufgrund zu hohen Gegendrucks zerbrechen.

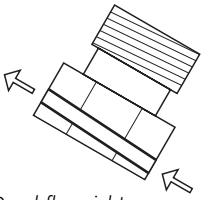
Zum Einbau der pH-Durchflusszelle und der pH-Elektrode zwischen der Leitfähigkeitszelle und dem Durchflussbegrenzer (weitere Einzelheiten siehe *Monitor UPC-900/Monitor pH/C-900 User Manual*):

1 Entfernen Sie den Durchflussbegrenzer und das Anschlussstück mit Außengewinde/Außengewinde von der Leitfähigkeitsdurchflusszelle.

2 Hängen Sie den Durchflusszellenhalter direkt rechts der optischen Einheit ein. Sichern Sie ihn mit der Befestigungsklammer. Die optische Einheit muss eventuell etwas nach links verschoben werden.



Wenn der Durchflusszellenhalter nicht verwendet wird, muss die Durchflusszelle dennoch in einem Winkel von 30° von der Senkrechten installiert werden, wobei der Auslass höher als der Einlass liegen muss, um zu verhindern, dass Luftblasen in der Zelle eingeschlossen werden. Die Durchflussrichtung ist auf der Durchflusszelle angegeben.



Durchflussrichtung

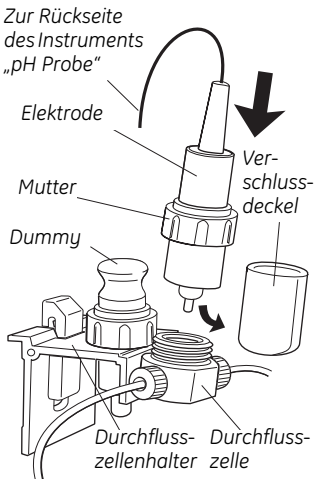
3 Packen Sie die pH-Elektrode aus. Stellen Sie sicher, dass sie nicht gebrochen oder trocken ist.

4 Bevor Sie die Elektrode zum ersten Mal verwenden, entfernen Sie den Elektrodenverschlussdeckel und tauchen Sie den Glaskolben 30 Minuten lang in die Pufferlösung.

5 Entfernen Sie die Dummy-Elektrode von der Durchflusszelle und setzen Sie sie in den Durchflusszellenhalter.

6 Setzen Sie vorsichtig die Elektrode in die Durchflusszelle ein. Ziehen Sie die Mutter von Hand an, um die Elektrode zu befestigen.

Hinweis: *Wenn die Elektrode nicht vollständig eingesetzt ist, leckt das System und ein Totvolumen entsteht im Halter.*



7 Schneiden Sie eine neue Kapillare mit 90 mm (Innendurchmesser 0,50 mm) zu und verbinden Sie den Auslass (Schraubenkopfende) der Leitfähigkeitsdurchflusszelle mit dem Einlass an der pH-Durchflusszelle (unterer Anschluss, gekennzeichnet mit IN).

8 Verbinden Sie den Auslass der pH-Durchflusszelle (markiert mit OUT) mit dem Einlass am FR-902 (markiert mit IN) mit Hilfe des Verbindungsstücks mit Außengewinde/Außengewinde.

9 Verbinden Sie den BNC-Anschluss der pH-Elektrode mit dem Anschluss ***pH-Probe*** (pH-Sonde) an der Rückseite des Monitors p/HC-900/UPC-900. Sollten Störungen durch elektrostatische Felder entstehen, verbinden Sie die pH-Durchflusszelle auch mit dem Anschluss ***pH-Ground*** (pH-Erdung) mit einem Standardlaborkabel mit 4 mm „Bananenstecker".

Hinweis: *Wenn Sie die pH-Elektrode verwenden, muss der Durchflussbegrenzer FR-904 durch den mitgelieferten Durchflussbegrenzer FR-902 ersetzt werden. Sonst werden die Langzeitstabilität und die Lebensdauer der pH-Elektrode verkürzt.*

2.3.5 Installieren des Computers und des Druckers

Packen Sie den Computer und den Drucker aus und installieren Sie sie gemäß den Herstelleranweisungen. Stellen Sie sie an der linken Seite des Systems auf.

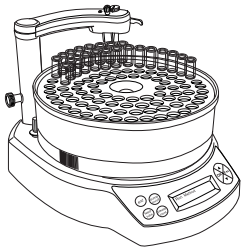
Hinweis: *Schalten Sie sie noch nicht an!*

WARNUNG! Für Notfälle muss der Netzschalter des Systems immer gut zugänglich sein und der Netzstecker muss immer leicht zu trennen sein.

WARNUNG! Der Computer muss an einem trockenen Ort und entsprechend den in den Herstelleranweisungen genannten Umgebungsanforderungen aufgestellt werden.

2.3.6 Installieren des Fraktionssammlers Frac-920 (optional)

Der Frac-920 kann sowohl für Reinigungen im kleinen Maßstab als auch im präparativen Maßstab mit dem ÄKTApurifier verwendet werden. Er sammelt bis zu 175 Fraktionen in Röhrchen mit einem Durchmesser von 12 mm, bis zu 95 Fraktionen in Röhrchen mit einem Durchmesser von 10–18 mm und bis zu 40 Fraktionen in Röhrchen mit einem Durchmesser von 30 mm.



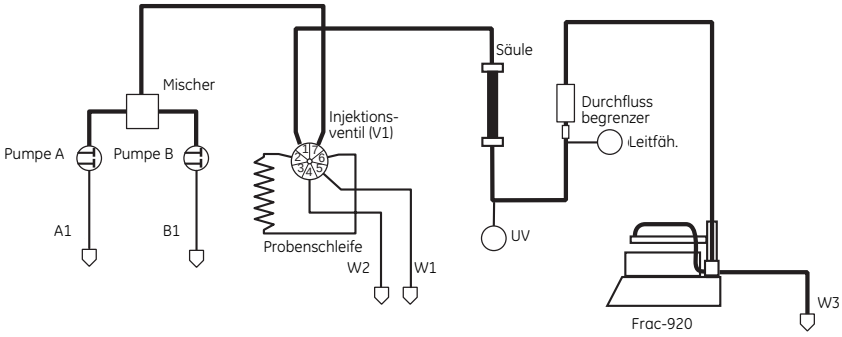
Der Frac-920 ermöglicht die Fraktionierung mit festgelegtem Volumen und/oder automatischer Peak-Erkennung. Die letztgenannte Funktion basiert auf der Peak-Erkennung mit Abtastung der Steigung oder der Höhe. Fraktionsmarkierungen und Fraktionsnummern erleichtern die Identifikation von Fraktionen und Peaks. Ein schneller Röhrchenwechsel minimiert das Verschütten zwischen den Röhrchen und beseitigt es völlig bei Durchflussgeschwindigkeiten unter 5 ml/min.

Die Tropfsynchronisierung verhindert Probenverlust während des Röhrchenwechsels.

Installation

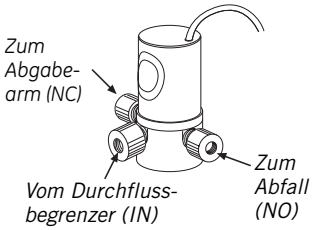
1 Packen Sie den Frac-920 aus und bauen Sie ihn entsprechend den Anweisungen im *Fraction Collector Frac-920 User Manual* auf.

2 Stellen Sie den Frac-920 an der rechten Seite des Systems auf.



3 Schließen Sie eine Kapillare vom Auslass des Durchflussbegrenzers zum IN-Port auf dem Fraktionsventil an.

Hinweis: *Verwenden Sie Kapillaren mit demselben Innendurchmesser wie G5 für den Anschluss an IN- und NC-Ports.*



4 Schließen Sie eine Kapillare vom NC- (normalerweise geschlossen) Port am Fraktionsventil zum Abgabearm am Frac-920 an. Befolgen Sie die Anweisungen im *Frac-920 User Manual*.

5 Schließen Sie eine Kapillare (W3) vom NO- (normalerweise geöffnet) Port am Fraktionsventil zum Abfallbehälter an.

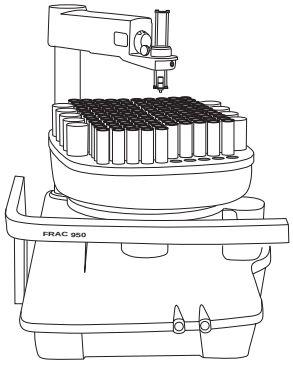
Abfallleitung

6 Setzen Sie das Ventil in das Loch hinter der Schale.

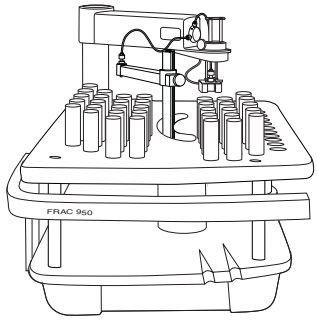
7 Verbinden Sie die Abfallleitung (W3) vom Frac-920 (34) mit einer geeigneten Abfallflasche.

8 Stellen Sie das Delay-Volumen in UNCORN ein, siehe Abschnitt 8.1.6 *„Einstellen des Delay-Volumens“*.

2.3.7 Installieren des Fraktionssammlers Frac-950 (optional)



Standardmodus



Präp-Modus

Der Frac-950 kann sowohl für Reinigungen im kleinen Maßstab (Standardmodus) als auch im präparativen Maßstab (Präp-Modus) mit dem ÄKTApurifier verwendet werden. Bis zu 392 Fraktionen können auf Zeit- oder Volumenbasis, als Fraktionierung mit festem Volumen und/oder Peak-Erkennung gesammelt werden.

Als Fraktionierungsreihenfolge kann mäanderförmig nach Reihe, Reihe für Reihe, mäanderförmig nach Spalte oder Spalte für Spalte gewählt werden.

Für den **Standardmodus** sind vier Größen von Röhrchenständern für Röhrchen mit dem Durchmessern 12, 18 und 30 mm und Mikrotiterplatten mit 96 Wells erhältlich.

Für den **Präp-Modus** sind zwei Größen von Ständern für Röhrchen mit einem Durchmesser von 30 mm und Flaschen mit 250 ml Inhalt erhältlich. Ein Trichter-Set für den Transport der Fraktionen in andere Gefäße ist ebenfalls erhältlich. Für die Verwendung des Frac-950 im Präp-Modus ist ein speziell für die Präp-Mode-Ständer angefertigter Verteilerarm erforderlich.

Probenverlust während des Röhrchenwechsels kann durch die Verwendung der Tropfsynchronisierung oder mit Hilfe eines eingebauten Akkumulators zur vorübergehenden Flüssigkeitsspeicherung während der Röhrchenwechsel vermieden werden.

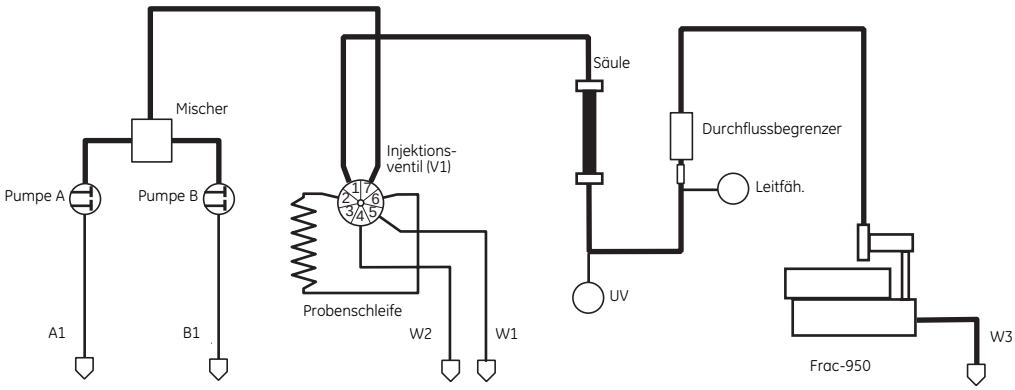
Installation

1 Packen Sie den Frac-950 aus und bauen Sie ihn entsprechend den Anweisungen im *Fraction Collector Frac-950 User Manual* auf.

2 Stellen Sie den Frac-950 auf der Arbeitsfläche an der rechten Seite des ÄKTApurifier auf.

3 Suchen Sie das Kapillaren-Set, das mit dem Frac-950 geliefert wird, und entscheiden Sie, ob Sie den Akkumulator für den Frac-950 nutzen wollen oder nicht.

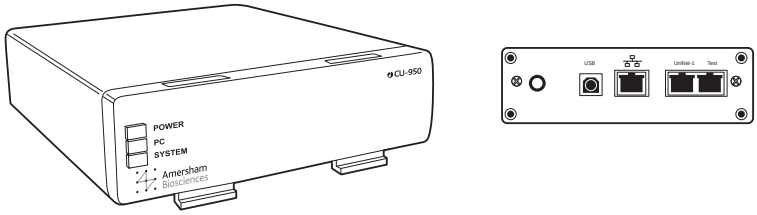
4 Schließen Sie die Kapillare vom Durchflussbegrenzer zum Frac-950 wie im *Frac-950 User Manual* beschrieben an.



5 Schließen Sie die mitgelieferte Abfallleitung (W3) an den Abfallauslass am Frac-950 an und führen Sie sie zu einem geeigneten Abfallbehälter.

6 Stellen Sie das Delay-Volumen in UNCORN ein, siehe Abschnitt 8.1.6 *„Einstellen des Delay-Volumens“*.

2.3.8 Installieren der Steuereinheit CU-950



1 Packen Sie die CU-950 aus.

2 Hängen Sie die CU-950 an die **linke Seite** des Systems, indem Sie die Haken an der Vorderseite der CU-950 in die Rille an der Seite des UV-900 einführen und in die richtige Position drehen.

2.3.9 Anschließen der UniNet-Kabel

VORSICHT! Der Netzschalter des ÄKTApurifier muss auf AUS gestellt sei, bevor Sie die UniNet-1-Kabel installieren.

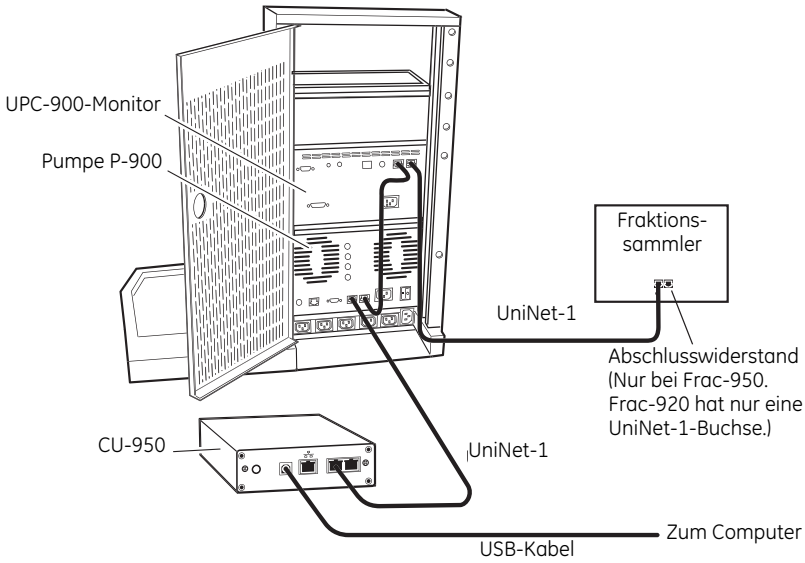


Abb. 2-2. Abbildung der ÄKTApurifier-UPC-Anschlüsse. Die ÄKTApurifier-Anschlüsse sind ähnlich.

1 Schließen Sie ein UniNet-1-Kabel zwischen dem **UniNet-1**-Port an der CU-950 und der Pumpe P-900 im System an.

2 Schließen Sie ein UniNet-1-Kabel zwischen der Pumpe P-900 und dem Monitor UPC-900/Monitor UV-900 an.

3 Bei der Verwendung eines Fraktionssammlers:

- Schließen Sie ein UniNet-1-Kabel zwischen dem Monitor UPC-900/ Monitor UV-900 und dem Fraktionssammler an.
- Stecken Sie einen Abschlusswiderstand in die leere **UniNet-1**-Buchse (nur bei Frac-950).

4 Wenn Sie keinen Fraktionssammler verwenden, stecken Sie einen Abschnlusswiderstand in die leere **UniNet-1**-Buchse im Monitor UPC-900/ Monitor UV-900.

5 Schließen Sie das USB-Kabel an den **USB**-Port an der CU-950 an. Beachten Sie, dass die CU-950 an der linken Seite des Systems angebracht werden sollte.

6 Schließen Sie das andere Ende des USB-Kabels an der Rückseite des Computers an. Für den Anschluss am Computer und die Installation siehe *UNICORN Administration and technical manual*.

7 Alle anderen UniNet-1-Kabel sind bei Lieferung angeschlossen.

2.3.10 Anschließen der Netzkabel

WARNUNG! ÄKTApurifier darf nur verwendet werden, wenn das System über das Schutzerdungskabel des Netzkabels ordnungsgemäß mit der Erdung der Hauptspannungsquelle verbunden ist.

WARNUNG! Für Notfälle muss der Netzschalter des Systems immer gut zugänglich sein und der Netzstecker muss immer leicht zu trennen sein.

WARNUNG! Verwenden Sie ausschließlich die von GE Healthcare gelieferten bzw. genehmigten Netzkabel.

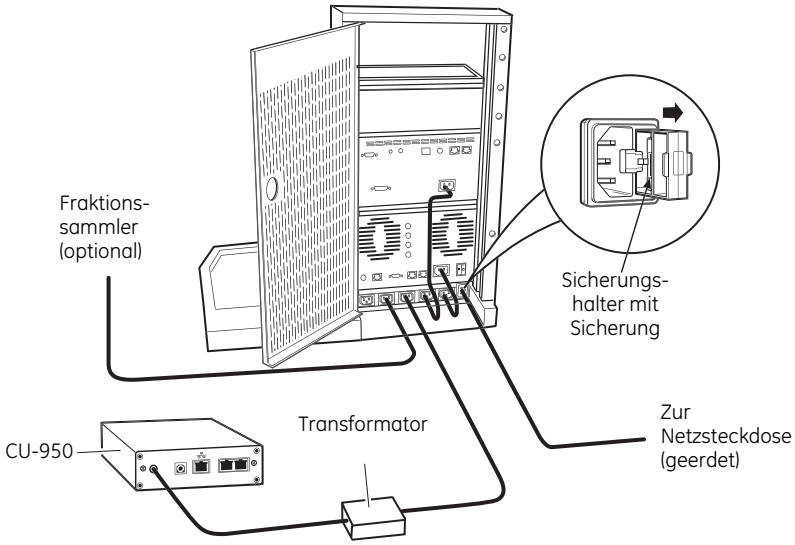


Abb. 2-3. ÄKTApurifier UPC, die Anschlüsse am ÄKTApurifier sind ähnlich

1 Schließen Sie das Transformatorkabel an den ***Input***-Port an der CU-950 an. Die CU-950 sollte an der linken Seite des Systems angebracht werden.

2 Schließen Sie ein mitgeliefertes Netzkabel zwischen dem Transformator und der Stromversorgungsbuchse am System an.

3 Wenn ein Fraktionssammler verwendet wird, schließen Sie ein mitgeliefertes Netzkabel zwischen dem Fraktionssammler und der Stromversorgungsbuchse am System an.

4 Schließen Sie ein mitgeliefertes Netzkabel zwischen dem ÄKTApurifier und einer ordnungsgemäß geerdeten Netzsteckdose gemäß *Abbildung 2-3* an. Nicht anschalten!

5 Alle anderen Netzkabel sind bei Lieferung angeschlossen.

Füllen Sie die ersten zwei Abschnitte des Installationsprotokolls aus.

Das Auspacken und die Installation des ÄKTApurifier sind nun abgeschlossen.

2.3.11 Einstellungen und Kalibrierung

1 Denken Sie daran, das Delay-Volumen zu ändern, wenn ein Fraktionssammler verwendet werden soll. Diese Einstellung finden Sie in ***System Control*** in ***System:Settings:Specials***. Zur Berechnung des neuen Delay-Volumens siehe Abschnitt 8.1.6 *„Einstellen des Delay-Volumens"*.

2 Kalibrieren Sie die pH-Elektrode und richten Sie die weiteren für die pH-Messung gewünschten Monitorfunktionen ein. Diese Vorgänge werden im *Monitor UPC-900/Monitor pH/C-900 User Manual* und in den *UNICORN User Manuals* beschrieben.

Prüfung	**Zeichen**	**Anmerkungen**
1 Auspacken		
Inhalt entsprechend Packlisten.		
Alle Verpackungsmaterialien entfernt.		
Keine sichtbare Beschädigung.		
2 Installation		
Abfallleitungen des Injektionsventils (Port 4 und 5, gekennzeichnet mit W1 und W2) an Abfallbehälter.		
Fraktionssammler installiert (optional).		
Abfallleitung (gekennzeichnet mit W3) mit Abfallbehälter verbunden.		
Monitor pH/C-900 installiert (optional).		
pH-Elektrodenhalter installiert (optional).		
Computer und Drucker installiert.		
UniNet-1-Kabel (und optional UniNet-2-Kabel) installiert.		

Netzkabel installiert.		
Säulenhalter installiert.		
Computer und Drucker installiert.		
3 Installationstest		
Lösungen vorbereitet.		
Leitungen zur Hinterkolbenspülung in 20-%-igem Ethanol.		
ÄKTApurifier vorbereitet.		
Installationstest durchgeführt.		
Ergebnisse des Installationstests ausgewertet.		
Testprotokoll ausgefüllt.		
Registrationsformular ausgefüllt.		
Testprotokoll und Fotokopie des Registrationsformulars im Systemlogbuch aufbewahrt.		
Registrationsformular an Service Administration versandt.		
Installation Guide für spätere Verwendung in User Manual Box aufbewahrt.		

Tabelle 2-1. Installationsprotokoll

2.4 Installationstest

Der Installationstest prüft die Förderleistung des Pumpensystems und die UV-Detektion des ÄKTApurifier. Der Installationstest kann auch jederzeit verwendet werden, um den Zustand des Systems zu prüfen, zum Beispiel nach einer längeren Pause.

Die korrekte Gradientenbildung wird durch die Herstellung eines linearen Gradienten und einer Reihe von Konzentrationsstufen von Aceton geprüft.

Die korrekte UV-Detektion wird geprüft durch die Überwachung der Aceton-Konzentration bei:

- 254 nm (Monitor UPC-900).
- 265, 254 und 280 nm und Berechnung der Absorptionsverhältnisse 265 nm/254 nm und 265 nm/280 nm (Monitor UV-900).

WARNUNG! Ergreifen Sie bei der Verwendung von gefährlichen Chemikalien alle geeigneten Schutzmaßnahmen, z. B. Tragen von Schutzbrillen und Handschuhen, die gegenüber den verwendeten Chemikalien resistent sind. Befolgen Sie alle vor Ort geltenden Vorschriften und Anweisungen zum sicheren Betrieb und zur Wartung des Systems.

2.4.1 Vorbereiten des ÄKTApurifier

Starten der Trenneinheit
Schalten Sie die Trenneinheit mit dem Netzschalter links an der Grundplatte ein.

Starten des Computers
Schalten Sie den Computer, das Display und den Drucker gemäß den Anweisungen in den Handbüchern der Hersteller ein.

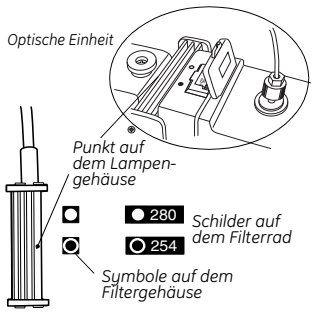
Starten der UNICORN-Steuersoftware und Anmelden
Starten Sie UNICORN wie im Abschnitt 3.3 *„UNICORN-Software"* beschrieben.

Prüfen der optischen Einheit
1 Überprüfen Sie, dass die korrekte UV-Zelle eingebaut ist:
UV-900-Monitor
ÄKTApurifier 10 wird mit eingebauter Zelle der Größe 10 mm geliefert. Eine Zelle der Größe 2 mm (optische Weglänge 2 mm, Innenvolumen 2 µl) ist als Zubehörteil erhältlich. Wenn aufgrund der Begrenzung des Ausgabesignals eine niedrigere Nachweisempfindlichkeit gewünscht wird, sollte die Durchflusszelle der Größe 2 mm verwendet werden.

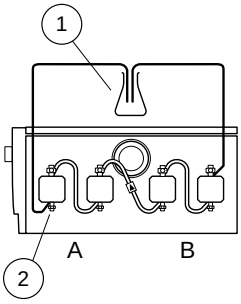
ÄKTApurifier 100 wird mit eingebauter Zelle der Größe 2 mm geliefert. Eine Zelle der Größe 10 mm (optische Weglänge 10 mm, Innenvolumen 8 µl) ist als Zubehörteil erhältlich. Für eine höhere Nachweisempfindlichkeit sollte die Durchflusszelle der Größe 10 mm verwendet werden.

2 **UPC-900-Monitor**
Überprüfen Sie an der optischen Einheit, dass die korrekte UV-Wellenlänge eingestellt ist.

Falls dies nicht der Fall ist, stellen Sie die Wellenlänge durch Auswahl der Position der Lampe (angezeigt durch einen Punkt auf dem Lampengehäuse) in Verbindung mit dem geeigneten Filter ein (der Punkt auf dem Lampengehäuse sollte neben dem Symbol auf dem Filtergehäuse liegen, das dem Symbol für den gewünschten Filter auf dem Filterrad entspricht).
Ein Einrasten zeigt, dass sich der Filter in Position befindet. Das Bild auf der rechten Seite zeigt die Einstellung der Wellenlänge 254 nm.



Füllen der Kolbenhinterspülung der Pumpe P-900.



1 Tauchen Sie die Spülleitung in einen Glaskolben (1) mit 20 %-igem Ethanol in destilliertem Wasser.

2 Schließen Sie eine Spritze an die Spülleitung an, die unter dem linken Pumpenkopf (2) an Pumpe A angeschlossen ist. Ziehen Sie langsam Spüllösung in die Spritze. Wenn Spüllösung in die Spritze läuft, ziehen Sie noch ein paar Milliliter mehr.

3 Lösen Sie die Spritze und tauchen Sie die Leitung in die Spüllösung (1). Nun sollten sich beide Enden im Glaskolben befinden (1).

Hinweis: *Ausführlichere Informationen finden Sie im User Manual der Pump P-900.*

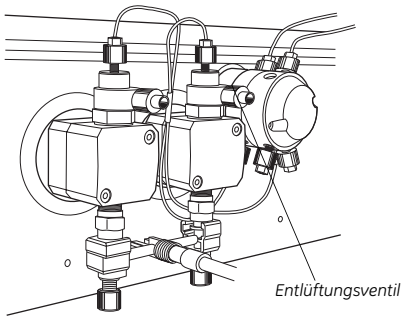
Entlüften der Pumpe P-900

1 Tauchen Sie die Einlassleitung aller Pumpenmodule mit den Filtern in destilliertes Wasser.

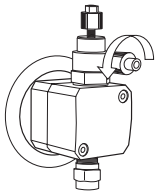
Hinweis: *Stellen Sie niemals die Sammelflasche unter der Höhe des Pumpeneinlasses auf.*

2 Schließen Sie eine Luer-Spritze mit Außenkegel mit mindestens 30 ml an die Entlüftungsleitung an.

3 Schließen Sie das andere Ende der Entlüftungsleitung an das linke Entlüftungsventil an der Pumpeneinheit A an.



4 Drehen Sie das Entlüftungsventil eine halbe Drehung gegen den Uhrzeigersinn, um es zu öffnen, und ziehen Sie langsam Eluent in die Spritze.



5 Wenn Flüssigkeit beginnt, in die Spritze zu laufen, ziehen Sie noch ein paar Milliliter mehr, bevor Sie das Entlüftungsventil schließen. Überprüfen Sie, dass sich keine Luft mehr in der Einlassleitung befindet.

6 Wiederholen Sie die Schritte 3 bis 5 für die anderen Pumpenköpfe.

Prüfen der Druckstabilität

Führen Sie einen Drucktest durch, um festzustellen, ob die gesamte Luft aus den Pumpenköpfen entfernt wurde:

1 Schließen Sie eine Kapillare zur Umgehung der Säule zwischen dem Injektionsventil, Port 1 und der Oberseite der UV-Zelle an.

2 **ÄKTApurifier 10**:
Wählen Sie manuell eine Flussrate von 0,2 ml/min und lassen Sie sie bei 0 %B laufen (destilliertes Wasser). Prüfen Sie am Pumpendisplay, dass die Druckwerte stabil sind (weniger als ± 0,02 MPa Schwankung).

ÄKTApurifier 100:
Wählen Sie manuell eine Flussrate von 10 ml/min und lassen Sie sie bei 0 %B laufen (destilliertes Wasser). Prüfen Sie am Pumpendisplay, dass die Druckwerte stabil sind (weniger als ± 0,2 MPa Schwankung).

3 **ÄKTApurifier 10**:
Wählen Sie manuell einen Gradienten von 100 %B aus, Länge 0 und lassen Sie die Pumpe mit 0,2 ml/min (destilliertes Wasser) laufen. Prüfen Sie am Pumpendisplay, dass die Druckwerte stabil sind (weniger als ± 0,02 MPa Schwankung).

ÄKTApurifier 100:
Wählen Sie manuell einen Gradienten von 100 %B aus, Länge 0 und lassen Sie die Pumpe mit 10 ml/min (destilliertes Wasser) laufen. Prüfen Sie am Pumpendisplay, dass die Druckwerte stabil sind (weniger als ± 0,2 MPa Schwankung).

4 Wenn der Druck stabil ist, fahren Sie mit Schritt 5 fort. Falls nicht, befolgen Sie die Anweisungen zur Fehlerbehebung im *Pump P-900 User Manual*.

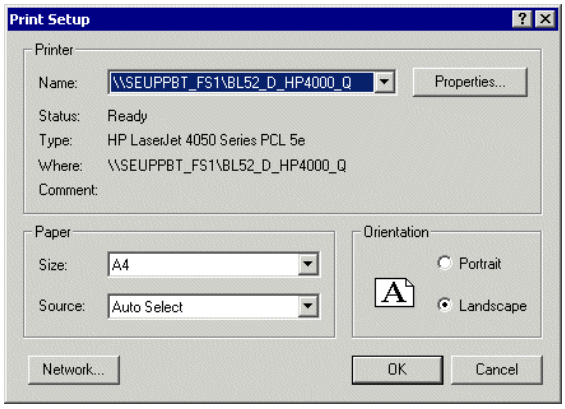
5 Klicken Sie auf ***END***.

6 Prüfen Sie, dass die Einlassfilter in die entsprechenden Pufferlösungen A und B gemäß der nachstehenden Tabelle eingetaucht sind.

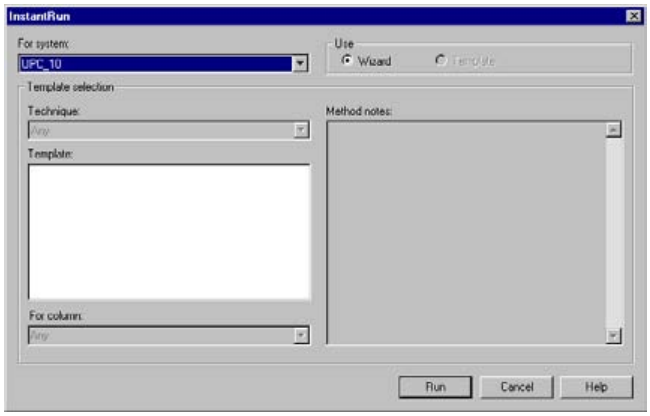
Leitfaden für den Installationstest	
Pufferlösung A:	Destilliertes Wasser (200 ml)
Pufferlösung B:	1,0 %-iges Aceton in destilliertem Wasser (200 ml)
Testdurchfluss-geschwindigkeit:	5 ml/min
Testlaufzeit:	Ca. 30 Minuten

2.4.2 Durchführen des Installationstests

1 Wählen Sie ***File:Printer Setup....*** im Modul ***UNICORN Manager***. Wählen Sie den entsprechenden Drucker aus der Liste aus und wählen Sie ***Landscape***. Klicken Sie dann auf ***OK***, um den gewählten Drucker zu bestätigen.



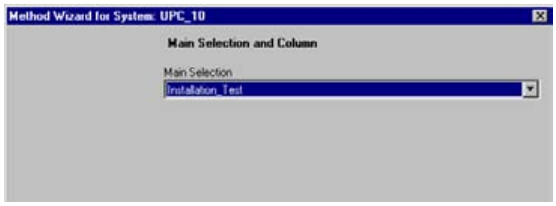
2 Wählen Sie ***File:Instant Run*** im Modul ***System Control***. Das Fenster ***Instant Run*** öffnet sich.



3 Wählen Sie das entsprechende System aus der Liste ***For system***.

4 Klicken Sie auf ***Run***. Der Method Wizard wird gestartet.

5 Wählen Sie ***Installation_Test*** in der Liste ***Main Selection*** und klicken Sie auf ***Run***.



6 Wählen Sie im Fenster ***Evaluation Procedures*** die Methode für Ihr System, zum Beispiel:

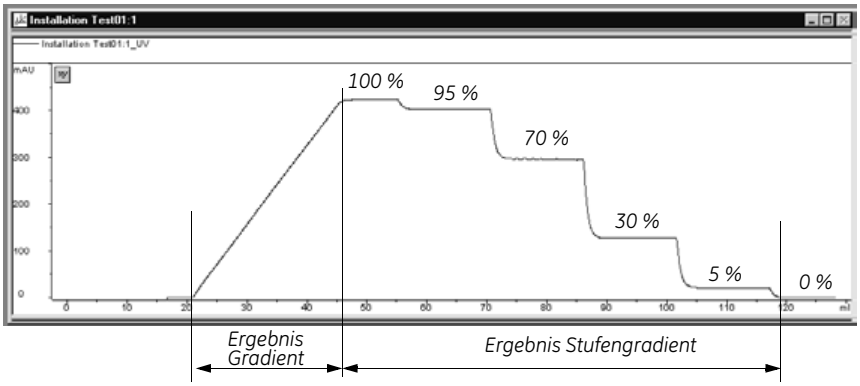
- ***InstPurifier_UPC***, für ÄKTApurifier
- ***InstBasic_UPC***, für ÄKTApurifier UPC
- Klicken Sie auf ***Next***.

7 Klicken Sie auf ***Next*** im Fenster ***Method Information***.

8 Klicken Sie auf ***START*** im Fenster ***Result Name***.

Der Fortschritt des Tests wird im Modul ***System Control*** überwacht. Die Ausführungszeit des Installationstests beträgt ca. 30 min.

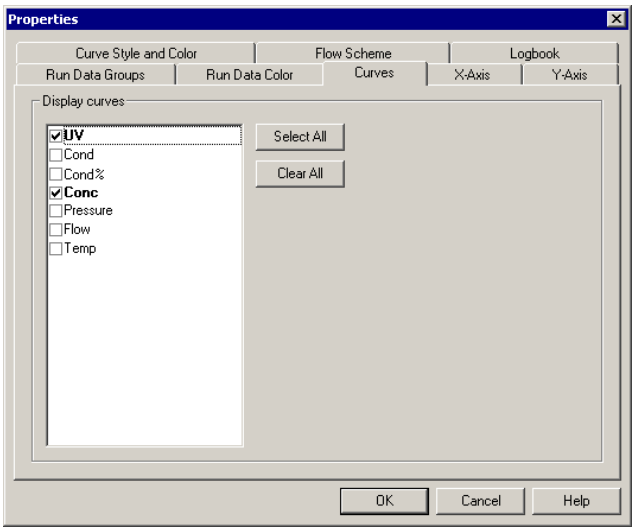
Wenn der Test abgeschlossen ist, druckt der Drucker automatisch das Chromatogramm und die Testergebnisse aus.



Anpassen des Fensters Curves
Zum Anpassen des Fensters Curves:

1 Klicken Sie mit der rechten Maustaste in das Fenster ***Curves*** und wählen Sie ***Properties***.

2 Klicken Sie auf die Registerkarte ***Curves***.



3 Wählen Sie die folgenden Kurven für die Anzeige aus:

ÄKTApurifier	**ÄKTApurifier UPC**
UV1_215nm	***UV***
Conc	***Conc***

Löschen Sie alle anderen Kurven. Klicken Sie auf ***OK***.

2.4.3 Automatische Auswertung der Ergebnisse des Installationstests

Das System druckt automatisch die Ergebnisse aus, wenn der Test abgeschlossen ist. Der Ausdruck besteht aus einem Chromatogramm und einer Auswertung der Testergebnisse.

- Wenn das Ergebnis des Gradiententests in Ordnung ist, steht im Ausdruck „Gradient linearity accepted." (Gradientenlinearität akzeptiert).
- Wenn das Ergebnis des Gradiententests in Ordnung ist, steht im Ausdruck „Step response accepted." (Gradiententest akzeptiert).
- Wenn das Ergebnis der UV-Detektion in Ordnung ist, steht im Ausdruck „UV response accepted." (UV-Detektion akzeptiert).

Wenn einer der ermittelten Werte außerhalb des festgelegten Bereichs liegt, siehe Abschnitt *2.4.5 „Berichtigen fehlerhafter Auswertungsergebnisse"*.

2.4.4 Manuelle Auswertung der Ergebnisse des Installationstests

Wenn das Chromatographiesystem von der Standardkonfiguration abweicht, wenn zum Beispiel optionale Komponenten installiert wurden, liefert die automatische Auswertung keine zuverlässigen Ergebnisse. Eine manuelle Auswertung ist erforderlich.

1 Wählen Sie das Modul ***UNICORN Manager***.

2 Klicken Sie auf im Fenster ***Results*** und führen Sie dann einen Doppelklick auf das Symbol ***Installation Test01*** aus, um die Ergebnisdatei zu öffnen.

3 Klicken Sie mit der rechten Maustaste in das Fenster ***Curves*** und wählen Sie ***Properties***.

4 Klicken Sie auf die Registerkarte ***Curves*** und wählen Sie die folgenden Kurven für die Anzeige aus:

ÄKTApurifier	ÄKTApurifier UPC
Installation Test01:1_UV1_215nm@01,SMTH	***Installation Test01:1_UV@01,SMTH***
Installation Test01:1_Conc	***Installation Test01:1_Conc***

5 Klicken Sie auf ***OK***.

6 Klicken Sie mit der rechten Maustaste in das Chromatogramm-Fenster und wählen Sie ***Marker***.

7 Lesen Sie die Absorption für die Stufen entsprechend:

ÄKTApurifier	ÄKTApurifier UPC
Installation Test01:1_UV1_215nm@01,SMTH	***Installation Test01:1_UV@01,SMTH***

Bewegen Sie den senkrechten Balken auf den konstanten Abschnitt jedes Plateaus durch Ziehen. Tragen Sie die Absorptionswerte (in mAU) in Spalte 2 in der Stufengradiententabelle des Testprotokolls (siehe Seite 42) ein, lassen Sie dabei die Dezimalstellen weg.

8 Klicken Sie auf ***Print*** unter ***File***, um das Chromatogramm zu drucken.

9 **(ÄKTApurifier**) Lesen Sie die Absorption für die Plateaus ab, die 0 %B und 100 %B für die Kurve ***Installation Test01:1_UV1_215nm@01,SMTH*** entsprechen, und tragen Sie die Werte in die Spalte 2 in der UV-Detektions-Tabelle des Testprotokolls ein.

Auswerten des Gradienten
Legen Sie ein Lineal an den Gradiententeil der Kurve

ÄKTApurifier	ÄKTApurifier UPC
Installation Test01:1_UV1_215nm@01,SMTH	***Installation Test01:1_UV@01,SMTH***

im ausgedruckten Bericht an.

Die Kurve sollte zwischen 10 % B und 90 % B linear und frei von Unstetigkeiten sein.

Auswerten des Stufengradienten
Berechnen Sie die relativen Absorptionsplateauhöhen für die Kurve

ÄKTApurifier	ÄKTApurifier UPC
Installation Test01:1_UV1_215nm@01,SMTH	***Installation Test01:1_UV@01,SMTH***

wie folgt:

- Subtrahieren Sie den Basislinienwert (0 %B) von jedem der Werte in Spalte 2 in der Stufengradiententabelle des Testprotokolls (siehe Seite 42) und tragen Sie die Ergebnisse in Spalte 3 ein.
- Dividieren Sie jeden Wert in Spalte 3 durch den um die Basislinie korrigierten Wert, der 100 %B entspricht, multiplizieren Sie das Ergebnis mit 100 und tragen Sie das Ergebnis in Spalte 4 ein.

Die Werte der Spalte 4 sollten alle in den in Spalte 5 angegebenen Intervallen liegen.

ÄKTA purifier: Auswerten der UV-Detektion
Berechnen Sie die UV-Detektions-Verhältnisse wie folgt:

1 Subtrahieren Sie die Basislinienwerte (0 % B), die jeder UV -Kurve entsprechen, von den Werten in Spalte 2 der UV-Detektions-Tabelle des Testprotokolls (siehe Seite 42) und tragen Sie die Ergebnisse in Spalte 3 ein.

2 Berechnen Sie die Absorptionsverhältnisse 265 nm/254 nm und 265 nm/280 nm mit Hilfe der Werte aus Spalte 3 und tragen Sie die Ergebnisse in Spalte 4 ein.

Die erhaltenen Ergebnisse sollten alle innerhalb der in Spalte 5 angegebenen Intervalle liegen.

2.4.5 Berichtigen fehlerhafter Auswertungsergebnisse

Wenn einer der ausgewerteten Werte außerhalb des festgelegten Bereichs liegt, gehen Sie wie folgt vor:

- Wenn das System sich von der Standardkonfiguration unterscheidet, werten Sie das Ergebnis manuell aus.
- Wenn das fehlerhafte Auswertungsergebnis fortbesteht, gehen Sie wie unten angegeben vor.

Fehlerhafter Gradient
- Der Gradient ist linear, aber das Intervall ist zu klein – die Mischkammer ist zu groß oder der Mischer ist fehlerhaft.
- Störungen – können durch Luft in der Pumpe, den Pumpenventilen oder schlechten Dichtungen in der Pumpe verursacht werden. Siehe *Pump P-900 User Manual*.

Fehlerhafter Stufengradient
- Wenn alle Werte fehlerhaft sind – Luft in der Pumpe oder fehlerhafte Pumpe.
- 5 % und 95 % fehlerhaft – schlechte Dichtung in den Pumpen (5 % fehlerhaft = Pumpenmodul B, 95 % fehlerhaft = Pumpenmodul A).

2.5 Testprotokoll

Datum: .....

Seriennummer ÄKTApurifier: .....

2.5.1 Ergebnis Gradiententest

Gradient linear von .....%B bis .....%B. (10–90 %)

2.5.2 Ergebnis Stufengradiententest

Stufengradiententabelle:

1 Programmierte Konz. %B	2 Abgelesener Wert	3 Um Basislinie korrigierter Wert	4 Wert nach Normalisierung	5 Zugelassenes Intervall
100				
95				94–96
70				69–71
30				29–31
5				4–6
0				

2.5.3 Ergebnis des UV-Detektions-Tests

UV-Detektions-Tabelle:

1 Wellenlänge (nm)	2 Abgelesener Wert 100 % B	 0 % B	3 Um Basislinie korrigierter Wert	4 Absorptions-verhältnis	5 Zugelassenes Intervall
254					
265/254					1,11–1,26
265					
265/280					1,26–1,53
280					

2.6 Registrationsformular

WICHTIG
INFORMATIONEN ZUR GARANTIEREGISTRIERUNG

Stellen Sie bitte sicher, dass dieses Formular ausgefüllt und an Service Administration zurückgesandt wird, damit das Gerät des Benutzers für die Garantie registriert wird.

Name: .....

Institut/Unternehmen: .....

Adresse: .....

Abteilung/Standort: .....

Postleitzahl: .....

Telefonnummer: ..... **Fax-Nummer:** .....

Benutzer: ..... **E-Mail:** .....

Datum der Installation: ..... **Angebots-Nr.:** .....

Kundenauftrags-Nr.: ..... **Rechnungs-Nr.:** .....

Support-Vertrag mit dem Gerät erworben: J/N

Wenn JA, bitte Einzelheiten angeben: .....

Installiert von (Name): .....

Unterschrift der Person, die die Installation durchgeführt hat: .....

Installation abgenommen: ..... Datum: .....

Hinweis: *Seriennummern auf der Rückseite eintragen.*

2.6.1 Komponenten

Seriennummern des ÄKTApurifier-Systems: .....

Menge	Teilenummer	Beschreibung	Seriennummer
		Systemgestell	
		Mischer M-925	
		UV-900-Monitor	
		UPC-900-Monitor	
		Pumpe P-900	
		INV-907	
		Computer	
		Monitor	

3 Systemüberblick

Dieses Kapitel gibt einen kurzen Überblick über das System ÄKTApurifier mit Trenneinheit und UNICORN-Software.

Hinweis: *Zwei Versionen sind erhältlich: ÄKTApurifier mit UV-900-Monitor für Mehrwellenlängen-Detektion und ÄKTApurifier UPC mit UPC-900-Monitor für eine kombinierte Messung von UV-Absorption, pH-Wert und Leitfähigkeit. Wenn die Anweisungen oder Spezifikationen für beide Modelle ähnlich sind, wird nur die Bezeichnung ÄKTApurifier gewählt.*

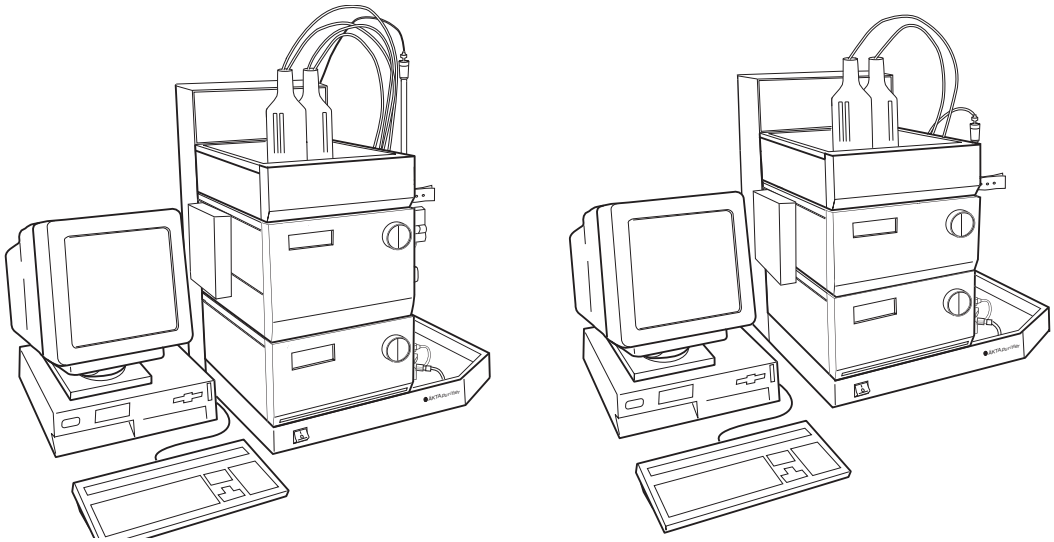


Abb. 3-1. Links ÄKTApurifier und rechts ÄKTApurifier UPC

3.1 Trenneinheit

ÄKTApurifier ist ein automatisiertes Flüssigkeitschromatographiesystem zur Verfahrensentwicklung und für Forschungsanwendungen. Die Trenneinheit des Chromatographiesystems hat zwei Hauptmodule, die aufeinandergestapelt sind.

Die Module sind:

- Pumpe P-900, eine binäre Hochleistungsgradientenpumpe, und
- **ÄKTApurifier**: UV-900-Monitor, ein Mehrwellenlängen-UV-Vis-Monitor für die Messung von bis zu drei Wellenlängen gleichzeitig.

- **ÄKTApurifier UPC:** Monitor UPC-900, ein kombinierter Hochleistungs-Online-Monitor für die Messung der UV-Absorption, der Leitfähigkeit und des pH-Wertes (optional).

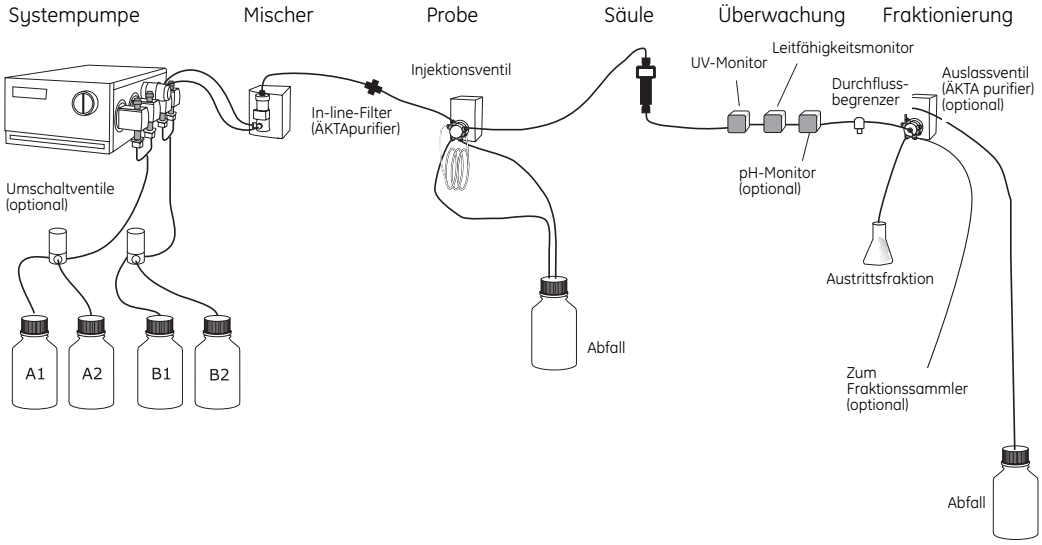
Komponenten wie der Mischer, die Säule und das Injektionsventil werden an der rechten Seite angebracht. Die Säulen werden in Säulenhaltern arretiert.

Die Trenneinheit wird von der UNICORN-Software aus gesteuert.

Die Pumpe P-900, der UV-900-Monitor und der UPC-900-Monitor können auch einzeln an den Modulen ohne UNICORN-Software gesteuert werden. Dies wird in den jeweiligen Handbüchern der Komponenten beschrieben.

3.1.1 Strömungsweg der Flüssigkeiten

Der Strömungsweg zwischen den verschiedenen Komponenten im System wird unten gezeigt und beschrieben.



1 Die Pumpe hat vier Pumpenköpfe, zwei für das Pumpenmodul A und zwei für das Pumpenmodul B. Das Pumpenmodul A ist näher an der Vorderseite.

2 Die Pumpeneinlasse A und B werden in die Pufferlösung A bzw. B getaucht. Die Pufferlösungen werden von der Pumpe zu einem Mischer gepumpt. Die Einlasse A1 und B1 werden in die Pufferlösung A bzw. B getaucht. Die Einlasse A2 und B2 werden verwendet, wenn die Pufferlösungen automatisch von BufferPrep vorbereitet werden. Sie können auch zum Auswechseln der Pufferlösung während der laufenden Methode verwendet werden.

3 Der Strömungsweg läuft über den Mischer zum Injektionsventil weiter. (Beim ÄKTApurifier über einen In-Line-Filter.)

4 Zwischen den Ports 2 und 6 am Injektionsventil ist eine Probenschleife angeschlossen. Die Probenschleife wird manuell mit einer Spritze und einem Einfüllport gefüllt, der an Port 3 im Injektionsventil angeschlossen wird.

5 Nach dem Injektionsventil wird der Strom durch die Säule und die UV-Zelle in die optische Einheit und die Leitfähigkeitszelle unter der optischen Einheit geleitet.

Wenn eine pH-Durchflusszelle (optional) im Strömungsweg eingeschlossen ist, wird sie nach der Leitfähigkeitszelle angebracht.

6 Der Strömungsweg setzt sich dann über den Durchflussbegrenzer fort. Der Durchflussbegrenzer erzeugt einen konstanten Gegendruck, um die Gefahr des Eindringens von Luftblasen in die UV-Zelle zu verhindern.

7 Im ÄKTApurifier setzt sich der Strom zum Auslassventil fort, das verwendet wird, um den Auslassstrom zwischen Abfall, Fraktionssammler oder Austrittsfraktion umzuschalten.

8 Wenn ein Frac-920 eingeschlossen ist, leitet das Fraktionsventil am Frac-920 den Strom zu den Sammelröhrchen oder zum Abfall.
Wenn ein Frac-950 eingeschlossen ist, wird der Strom zum Akkumulator (wenn angeschlossen) und dann zu den Sammelröhrchen oder zum Abfall geleitet.

3.2 Säulen und Kapillaren

Eine große Auswahl vorgepackter Säulen für Ionenaustausch-, Größenausschluss-, hydrophobe Wechselwirkungs-, Reversed-Phase- und Affinitätschromatographie ist für die Verwendung mit ÄKTApurifier geeignet. Eine umfassende Liste der empfohlenen vorgepackten Säulen finden Sie im Abschnitt 8.4 unter *„Empfohlene Kapillaren und Säulen"* zusammen mit Informationen zu den empfohlenen Kapillaren für jede Säule.

Es ist sehr wichtig, dass die richtigen Kapillaren verwendet werden. Beachten Sie den zugelassenen Höchstdruck für die Säule und die Säulengröße.

Bei Niederdrucksäulen wie HiTrap™ und HiLoad™ ist es erforderlich, den Vorsäulendruck wie in Abschnitt 5.4 unter *„Zusätzliche Systemdruckmessung"* beschrieben auszugleichen.

3.2.1 Kapillaren für ÄKTApurifier10

WARNUNG! Verwenden Sie niemals Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm oder kleiner mit Säulen, die nur einem geringen Höchstdruck standhalten und die hohe Durchflussgeschwindigkeiten ermöglichen, da die Säulen zerbrechen können, was zu Verletzungen führen kann.

Bei Lieferung ist das System von der Pumpe bis zum Injektionsventil mit Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,50 mm (PEEK, orange) und vom Injektionsventil bis zur Leitfähigkeitszelle mit Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm (PEEK, blau) ausgestattet.

Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,50 mm können auch vom Injektionsventil bis zur Leitfähigkeitszelle verwendet werden. Dieser Durchmesser sollte bei Säulen verwendet werden, die einen niedrigen Maximaldruck haben und hohe Durchflussraten erlauben. Wenn Kapillaren mit einem kleineren Innendurchmesser verwendet werden, besteht die Gefahr, dass der Gegendruck zu hoch ist und die Säulen brechen können.

Die Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm sollten auch gegen Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,50 mm ausgetauscht werden, wenn eine pH-Elektrode (optional) verwendet wird.

Hinweis: *Verwenden Sie nur maximal 80 % Acetonitril-Eluent bei Drücken über 10 MPa. Sonst wird die Lebensdauer der Kapillaren verkürzt.*

3.2.2 Kapillaren für ÄKTApurifier 100

Bei Lieferung ist das System von der Pumpe bis zur Leitfähigkeitszelle mit Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,75 mm (PEEK, grün) ausgestattet.

3.3 UNICORN-Software

UNICORN ist ein Softwarepaket zur Steuerung und Überwachung des ÄKTAdesign-Chromatographiesystems. Es läuft auf IBM-kompatiblen PC mit Windows®-Betriebssystem von Microsoft® und umfasst Hardware, um den Steuer-PC an den ÄKTApurifier anzuschließen.

3.3.1 Starten von UNICORN

Zum Starten von UNICORN:

1 Schalten Sie den Computer an. Melden Sie sich bei Windows an, indem Sie zuerst **Strg-Alt-Entf** drücken und dann auf ***OK*** klicken. Nach einem Augenblick erscheint der Windows-Desktop.

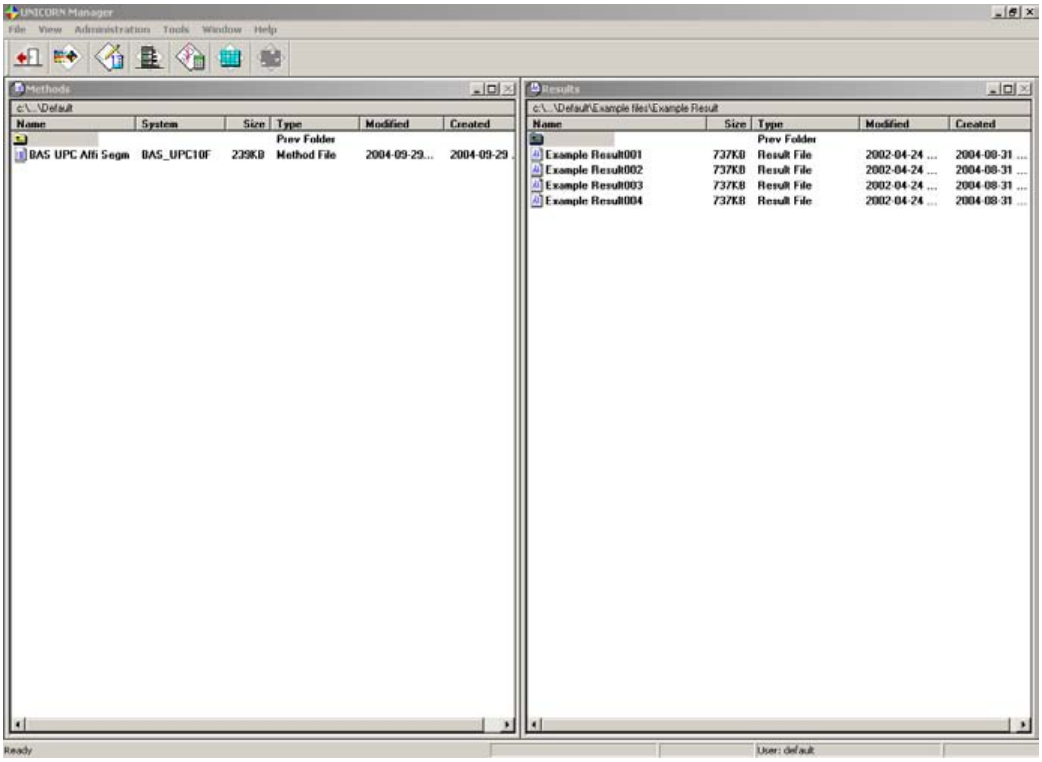
2 Starten Sie UNICORN mit einem Doppelklick auf das UNICORN-Symbol.

Während des Startvorgangs erscheint ein Informationsfenster.

3 Wählen Sie im ***Logon***-Dialog einen Benutzer aus der Liste der ***Users*** und geben Sie das Passwort ein. Wenn Sie sich das erste Mal anmelden, wählen Sie als Benutzer ***default*** und geben Sie dann das Passwort ***default*** ein. Klicken Sie auf ***OK***.

Hinweis: *Sie sollten Benutzer und individuelle Passwörter eingeben, bevor Sie ÄKTApurifier regelmäßig nutzen. Siehe UNICORN User manuals.*

4 Schließlich erscheint das Modul ***UNICORN Manager*** auf dem Bildschirm.


UNICORN Manager
File View Administration Tools Window Help
Methods
c:\..\Default
Name System Size Type Modified Created
Prev Folder
BAS UPC Alfi Segm BAS_UPC10F 239KB Method File 2004-09-29... 2004-09-29
Results
c:\..\Default\Example files\Example Result
Name Size Type Modified Created
Prev Folder
Example Result001 737KB Result File 2002-04-24 ... 2004-08-31 ...
Example Result002 737KB Result File 2002-04-24 ... 2004-08-31 ...
Example Result003 737KB Result File 2002-04-24 ... 2004-08-31 ...
Example Result004 737KB Result File 2002-04-24 ... 2004-08-31 ...
Ready
User: default

5 Das Modul ***UNICORN Manager*** ist das Kernstück der UNICORN-Anzeigen. Es wird hauptsächlich für die Dateibearbeitung und -verwaltung verwendet. Von diesem Modul aus navigieren Sie durch das Steuersystem.

Im Fenster ***Methods*** links werden alle Methoden, die Sie erstellt haben, angezeigt. Eine Methode enthält eine Reihe von Anweisungen zur Steuerung eines Laufs.

Im Fenster ***Results*** rechts werden alle Ergebnisdateien angezeigt. Eine Ergebnisdatei ist das Ergebnis eines Laufs einschließlich der gesamten Dokumentation (d. h. verwendete Methode) und des erzeugten Chromatogramms.

3.3.2 UNICORN-Module und -Schaltflächen

Im Allgemeinen besteht UNICORN aus 4 verschiedenen Modulen, zu denen der ***UNICORN Manager*** gehört. Die anderen Module werden durch Symbole in der Symbolleiste dargestellt. Diese Module sind:

- Method Editor — Öffnet ein Dialogfenster zur Erstellung neuer Methoden.

- System control — Öffnet ein Dialogfenster zur Steuerung des Systems und zur Durchführung Ihrer Methoden.

- Evaluation — Öffnet ein Dialogfenster zur Auswertung Ihrer Ergebnisse.

Um zwischen den Modulen zu wechseln, klicken Sie auf die entsprechende Schaltfläche in der Task-Leiste am unteren Bildschirmrand.

In der Symbolleiste sind weitere Schaltflächen vorhanden. Diese sind:

- Instant run — Öffnet ein Dialogfenster, in dem Sie direkt eine durchzuführende Methode erstellen können. Dies ist praktisch, um sofort Routineläufe zu starten.

- Logon/Logoff — Öffnet ein Dialogfenster zur Steuerung des An-/Abmeldevorgangs.

- Method Queue* — Öffnet ein Dialogfenster zur Festlegung einer neuen Method Queue.

- Running Method Queues — Öffnet ein Dialogfenster, um anzuzeigen, dass ein Method Queue läuft.

* Method Queues werden verwendet, um verschiedene Methoden miteinander zu verbinden.

3.3.3 Hilfe

Umfassende Online-Hilfe ist verfügbar.

Um Hilfe zu einer Anweisung oder einem Modul zu erhalten:

- Stellen Sie den Cursor auf die Anweisung/das Modul und drücken Sie die Taste ***F1*** *oder*
- Klicken Sie auf das Menü ***Help*** in der rechten oberen Ecke jedes Moduls und wählen Sie ***Help for.....,*** um allgemeine Hilfe zur aktuellen Anweisung oder zum aktuellen Modul zu erhalten und neue Hilfethemen zu finden, oder ***Index*** für ein spezielles Thema.

Klicken Sie in jedem Dialog auf die Schaltfläche ***Help***, um Hilfe zur Benutzung des aktuell aktiven Dialogs zu erhalten.

4 Betrieb

In diesem Kapitel lernen Sie, wie Sie ÄKTApurifier von UNICORN aus bedienen.

Hinweis: *Zwei Versionen sind erhältlich: ÄKTApurifier mit UV-900-Monitor für Mehrwellenlängen-Detektion und ÄKTApurifier UPC mit UPC-900-Monitor für eine kombinierte Messung von UV-Absorption, pH-Wert und Leitfähigkeit. Wenn die Anweisungen oder Spezifikationen für beide Modelle ähnlich sind, wird nur die Bezeichnung ÄKTApurifier verwendet.*

Die folgenden Themen werden behandelt:

- Inbetriebnahme des Systems.
- Erstellen einer Methode.
- Vorbereiten des Systems für einen Lauf.
- Durchführen und Überwachen eines Laufs.
- Durchführen einfacher Ergebnisauswertungen.
- Anzeigen und Ausdrucken von Ergebnissen.
- Durchführen einer automatischen Methodenoptimierung (Scouting).
- Automatisches Vorbereiten von Pufferlösungen beliebiger pH-Werte (BufferPrep).

Das Kapitel enthält auch Informationen zur Fraktionssammlung, zum Betrieb in Kühläumen, zur Mischung von Gradienten und zur Feedback-Abstimmung.

WARNUNG! Ergreifen Sie bei der Verwendung von gefährlichen Chemikalien alle geeigneten Schutzmaßnahmen, z. B. Tragen von Schutzbrillen und Handschuhen, die gegenüber den verwendeten Chemikalien resistent sind. Befolgen Sie alle vor Ort geltenden Vorschriften und Anweisungen zum sicheren Betrieb und zur Wartung des Systems.

4.1 Inbetriebnahme des Systems

WICHTIG! Lesen Sie vor der Verwendung des ÄKTApurifier alle Sicherheitsinformationen in Kapitel *1.3 Sicherheit*.

4.1.1 Voraussetzungen

Stellen Sie vor Beginn eines Laufs sicher, dass:

- das System und die Software installiert sind und funktionieren
- die Monitore und Pumpen getestet wurden.

Dies wird in Kapitel *2 Installation* beschrieben.

4.1.2 Inbetriebnahme des Systems

Zur Inbetriebnahme des Systems:

1 Schalten Sie die Trenneinheit mit dem Netzschalter links an der Grundplatte ein.

2 Schalten Sie den Computers, das Display und den Drucker ein.

3 Starten Sie UNICORN. Siehe Abschnitt 3.3.1 *„Starten von UNICORN"*.

4.2 Erstellen einer Methode

Die UNICORN-Steuersoftware wird mit einem *Method Wizard* geliefert, der zur Erstellung neuer Methoden verwendet wird. Der Method Wizard besteht aus einer Reihe von Dialogen, in denen Sie Fragen beantworten und Anweisungen dazu erhalten, wie Sie Ihre Methode erstellen können. Die Optionen in den folgenden Dialogen hängen von Ihren Entscheidungen in den vorherigen Dialogen ab.

Der Method Wizard deckt die am häufigsten verwendeten Chromatographie-methoden ab.

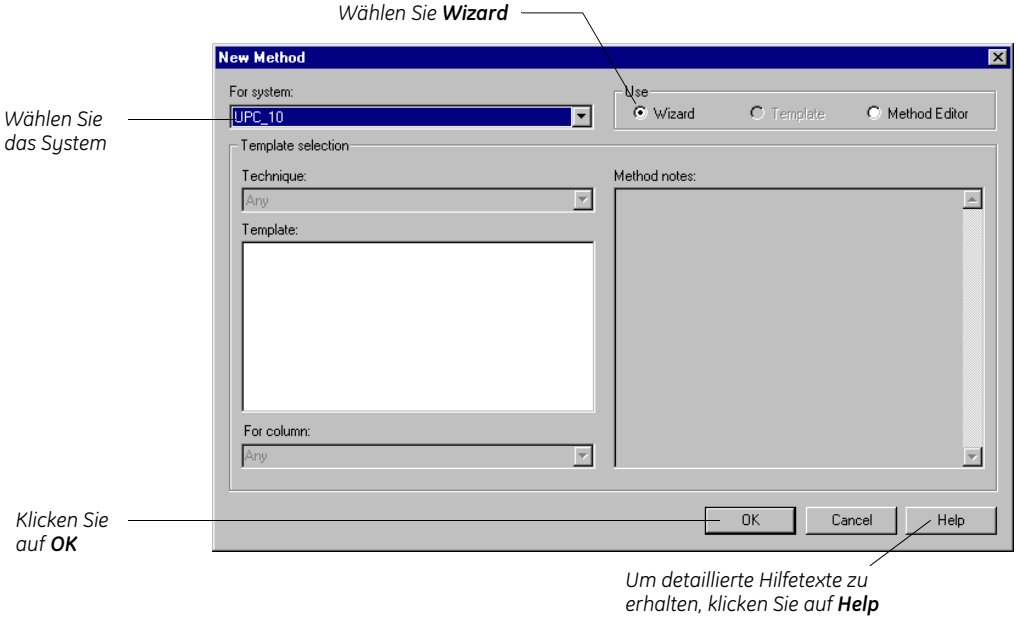
Hinweis: *Screenshots des ÄKTApurifier UPC werden in den Beispielen gezeigt.*

Zur Erstellung einer Methode:

1 Klicken Sie auf das Symbol im Modul ***Method Editor***. Der Method Wizard wird gestartet.

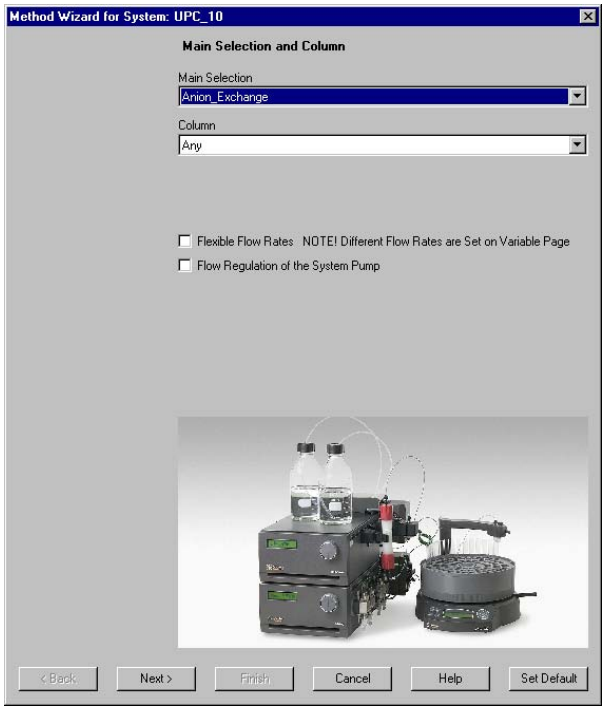
Oder

Wählen Sie ***File:New*** im Modul ***Method Editor***. Der Dialog ***New Method*** erscheint.



- Wählen Sie ***Wizard*** aus den Optionen unter ***Use***.
- Wählen Sie, welches System Sie verwenden möchten.
- Klicken Sie auf ***OK***. Der Method Wizard wird gestartet.

2 Wählen Sie eine Chromatographiemethode, zum Beispiel ***Anion_Exchange*** aus der Liste ***Main Selection***.



3 Wählen Sie aus, welche Säule Sie verwenden wollen. Das korrekte Säulenvolumen, die empfohlene Durchflussgeschwindigkeit und die korrekte Druckgrenze für diese Säule werden dann automatisch in die Methode übernommen.

Hinweis: *Wenn Sie Ihre Säule in der Liste nicht finden, können Sie diese hinzufügen. Siehe UNICORN User Manual und Abschnitt 8.4.3 „Auswählen von Kapillarsätzen für andere Säulen".*

Hinweis: *Wenn Sie die Standardwerte der Säule manuell ändern und damit die empfohlenen Werte für die ausgewählte Säule überschreiten, erhalten Sie eine Warnung, wenn Sie Ihre Methode speichern.*

Hinweis: *Wenn Sie einen Testlauf ohne Säule durchführen möchten, sollten Sie dennoch eine Säule wählen (eine kleine wird empfohlen), um geeignete Standardparameter für Ihre Methode zu erhalten. Wenn Sie den Lauf durchführen, verwenden Sie dann ein Stück Kapillare, um die Säule zu ersetzen.*

4 Falls erforderlich, wählen Sie ***Flexible Flow Rates*** bzw. ***Flow Regulation of the System Pump***.

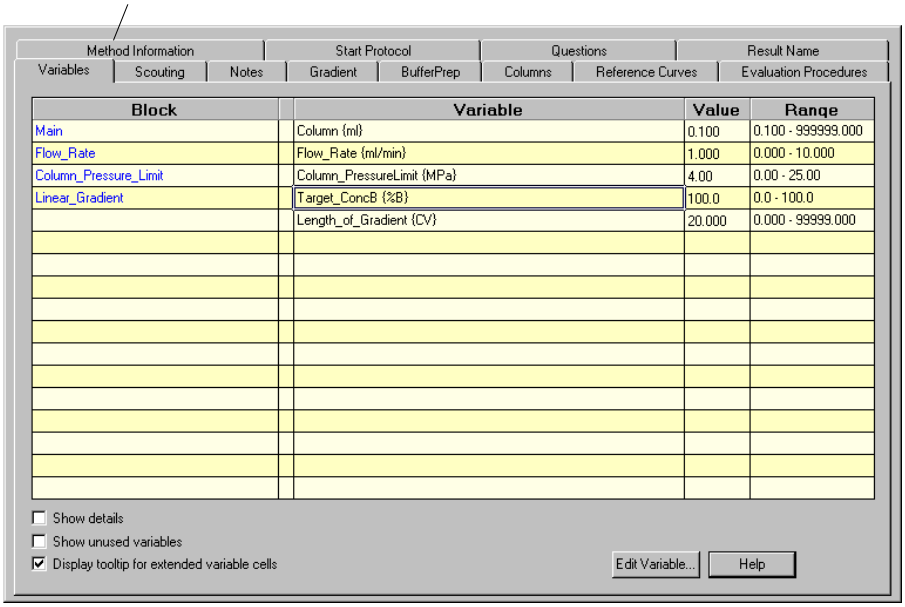
5 Klicken Sie auf ***Next***, um zu den folgenden Dialogen zu gelangen. Wählen Sie in jedem Dialog die geeigneten Parameterwerte aus.

Hinweis: *Die im Method Wizard verfügbaren Optionen sind von der aktuellen Systemkonfiguration abhängig. Wenn zum Beispiel ein Fraktionssammler installiert ist, erscheinen die Optionen für die Einstellung der Fraktionierung im Wizard.*

Hinweis: *Klicken Sie im Dialog auf **Help**, um weitere Informationen zu den Optionen im Method Wizard zu erhalten.*

6 Klicken Sie im letzten Dialog auf ***Finish***. Das Fenster Run Setup erscheint. Falls nicht, wählen Sie ***View:Run Setup***.

Klicken Sie hier, um die Seite auszuwählen



Das Run Setup besteht aus mehreren Seiten. Sie wählen eine Seite aus, indem Sie auf die entsprechende Registerkarte oben im Fenster klicken.

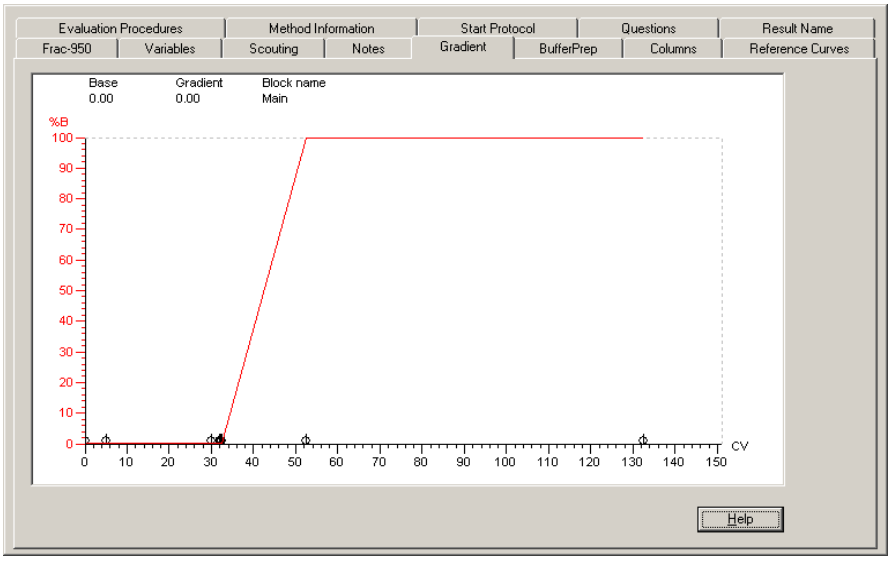
Einige der wichtigeren Seiten werden nachstehend beschrieben.

7 Auf der Seite Variables wird die Methode durch eine Reihe von Blöcken dargestellt. Die Blöcke stellen die typischen Schritte in einem chromatographischen Lauf dar:

- Startanweisungen
- Äquilibrierung der Säule
- Probeninjektion (siehe auch Abschnitt 4.4 *„Probenaufgabe“*)
- Ungebundene Probe auswaschen
- Fraktionierung (siehe auch Abschnitt 4.3 *„Fraktionssammlung“*)
- Gradient
- Reinigen nach Elution
- Reäquilibrierung

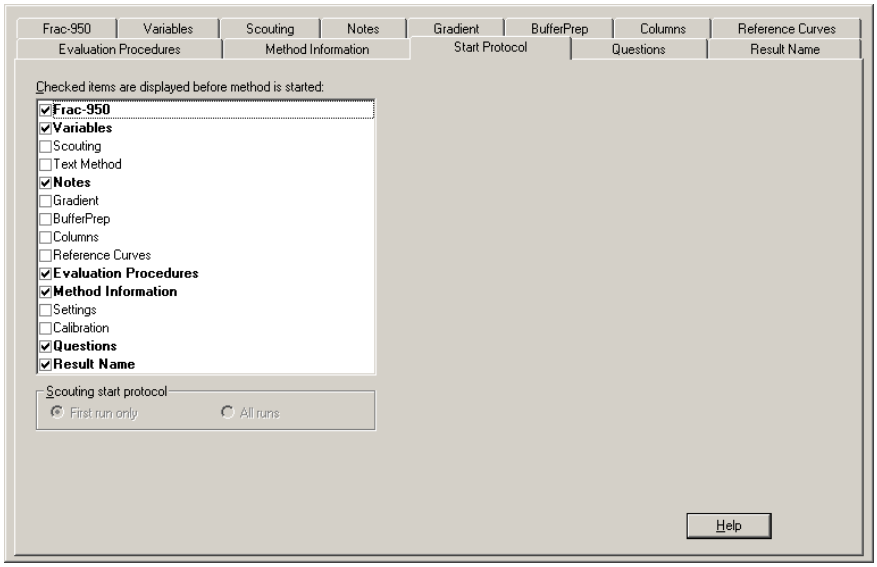
Einige der Blöcke enthalten eine Reihe von Variablen mit geeigneten Standardwerten. Die Werte können so geändert werden, dass sie für Ihre Anwendung geeignet sind. Einige der Variablen sind normalerweise ausgeblendet, können aber durch Anhaken des Kästchens ***Show details*** angezeigt werden.

8 Klicken Sie auf den Registerreiter ***Gradient***, um eine graphische Darstellung der Methode zu erhalten.



Die Länge jedes Blockes ist unten am Graphen markiert. Klicken Sie auf die x-Achse, um die Methode nach Zeit, Volumen oder Säulenvolumen anzuzeigen.

9 Klicken Sie auf den Registerreiter ***Start Protocol***, um zu entscheiden, welche der Seiten des Run Setup beim Start eines Laufs angezeigt werden sollen.



10 Um die Methode zu speichern, wählen Sie ***File:Save.*** Geben Sie eine Bezeichnung im Dialog ***Save As*** ein. Speichern Sie die Methode in das Verzeichnis Ihrer Wahl durch Doppelklick auf ein Verzeichnis. Klicken Sie auf ***OK***.

Im Modul ***UNICORN Manager*** erscheint die Bezeichnung der Methode im Fenster ***Methods***. Die Bezeichnung der Methode, gefolgt von drei fortlaufenden Zahlen beginnend bei 001, wird dann als Standardbezeichnung für die Ergebnisdatei Ihrer Methode nach den Läufen verwendet.

Sie können nun einen Lauf starten. Gehen Sie zum Abschnitt 4.6 *„Starten eines Laufs"*.

Für weitere Informationen zur:

- Fraktionssammlung, siehe Abschnitt 4.3 *„Fraktionssammlung"*
- Verwendung von Scouting in einer Methode, siehe Abschnitt 5.3 *„Scouting"*
- Verwendung von BufferPrep in einer Methode, siehe Abschnitt 5.2 *„BufferPrep"*.

4.3 Fraktionssammlung

Die Fraktionen können vor bzw. während der Elution mit Hilfe eines Fraktionssammlers gesammelt werden. Die Software bietet die folgenden Methoden für das Sammeln von Fraktionen:

- Durchflussfraktionierung
- Fraktionierung mit festem Volumen
- Peak-Fraktionierung

Für weitere Informationen zur Verwendung Ihres Fraktionssammlers siehe entsprechendes Handbuch.

Hinweis: *Das Delay-Volumen (UV-Zelle zum Auslass des Fraktionssammlers) wird nicht bei der Auslieferung des Systems eingestellt, da es von der Länge Ihrer Auslassleitung abhängt. Zum Einstellen des Delay-Volumens in UNICORN, siehe Abschnitt 8.1.6 „Einstellen des Delay-Volumens".*

4.3.1 Methoden der Fraktionssammlung im Method Wizard

Der Method Wizard enthält automatisch die Methoden zur Fraktionssammlung, wenn ein Fraktionssammler in UNICORN ausgewählt wurde. Standardmäßig wird ein Fraktionssammler automatisch ausgewählt, wenn die korrekten Strategien verwendet werden.

Zur Prüfung, dass der Fraktionssammler in UNICORN ausgewählt ist:

1 Wählen Sie im ***UNICORN Manager Administration:System Setup***.

2 Wählen Sie im Dialog ***System Setup*** das korrekte Systemsymbol und klicken Sie auf ***Edit***.

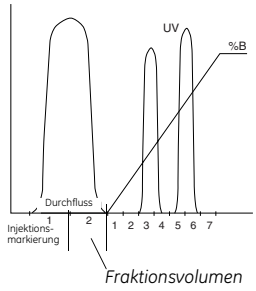
3 Klicken Sie im Dialog ***Edit System*** auf ***Component***.

4 Prüfen Sie, dass der Fraktionssammler ausgewählt ist.

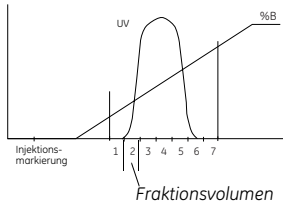
Durchflussfraktionierung

Durchflussfraktionierung bedeutet, dass feste Volumina gesammelt werden, bevor die Elution beginnt. Diese Fraktionierungsmethode ist in allen Reinigungsmethoden mit Ausnahme des Größenausschlusses verfügbar.

Die Parameter sind auf der Seite ***Frac-920/950 Settings/Flowthrough Fractionation*** im Method Wizard zu finden.



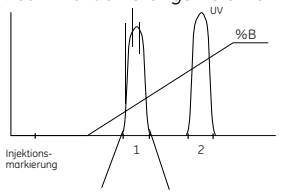
Fraktionierung mit festem Volumen
Fraktionierung mit festem Volumen ermöglicht es Ihnen, feste Volumina (Fraktionsvolumen) während der Elution zu sammeln.



Die Parameter sind auf der Seite ***Elution Fractionation*** im Method Wizard zu finden.

Peak-Fraktionierung
Peak-Fraktionierung bedeutet, dass nur die Peaks während der Elution gesammelt werden. Es gibt zwei Arten zum Sammeln von Peaks:

Peak-Fraktionierungs-Volumen



- Jeder Peak wird in einer Fraktion gesammelt. Die Peak-Größe wird auf ein Volumen eingestellt (Peak-Fraktionierungs-Volumen), das größer ist als das tatsächliche Peak-Volumen.
- Jeder Peak wird in verschiedenen Fraktionen gesammelt. Die Peak-Größe wird auf ein Volumen eingestellt (Peak-Fraktionierungs-Volumen), das kleiner ist als das tatsächliche Peak-Volumen.

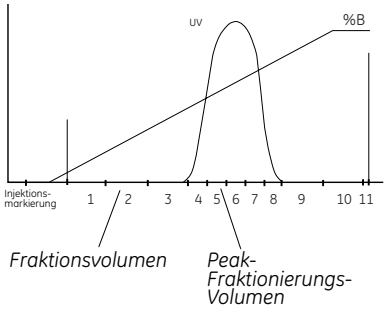
Die Peak-Fraktionierung wird auf der Seite ***Elution Fractionation*** im Method Wizard ausgewählt. Die Parameter sind auf der Seite ***Peak Fractionation*** zu finden.

Beispiele für Parameter der Peak-Fraktionierung sind:

- Start- und Endpunkte der zu sammelnden Fraktionen (die Neigung oder die Höhe der UV-Kurve)
- zu sammelnde Mindest-Peak-Breite
- Peak-Fraktionierungs-Volumen

Siehe *UNICORN User manuals* für weitere Informationen zu den Eigenschaften der Peak-Neigungen und -Höhen.

Peak-Fraktionierung mit festem Volumen



Die Fraktionierung mit festem Volumen kann auch mit der Peak-Fraktionierung während der Elution kombiniert werden. In diesem Fall werden feste Volumina (Fraktionierungsvolumen) gesammelt, bis ein Peak erkannt wird. Der Peak wird dann mit Hilfe der Parameter für das Peak-Fraktionierungs-Volumen entweder in einem oder in mehreren Fraktionsvolumina gesammelt. Wenn das Peak-Ende entdeckt wird, wird die Fraktionierung mit festem Volumen fortgesetzt.

4.3.2 Auslassventil (optional)

Ein Auslassventil kann dazu verwendet werden, den Flüssigkeitsstrom entweder zum Abfall oder zur Fraktionierung zu leiten. Zur Durchführung der Auslass-fraktionierung wählen Sie ***Outlet Valve*** im Dialog ***Elution Fractionation*** im Wizard.

- Port 1 (Ventilstandardposition) sollte immer an eine Abfallflasche geeigneter Größe angeschlossen werden (W3).
- Ein Fraktionssammler kann mit einer Leitung G9/H9 an das Auslassventil angeschlossen werden.
- Die Ports 2–8 des Auslassventils können auch für die Sammlung größerer Fraktionen verwendet werden.

4.4 Probenaufgabe

Mit dem ÄKTApurifier kann die Probe je nach Anwendung und Probenvolumen auf verschiedene Arten aufgebracht werden:

- Unter Verwendung von Probenschleifen, die manuell mit einer Spritze gefüllt werden, oder mit einem Superloop. Optional kann die Probe auch unter Verwendung einer Probenpumpe aufgebracht werden, zum Beispiel der Pumpe P-960. Weitere Informationen finden Sie in der Packung der Pumpe P-960.
- (optional) Direkt auf die Säule unter Verwendung der Pumpe P-960 oder der Systempumpe.
- (optional) Mit einem Autosampler, A-900 oder A-905.

Die nachstehende Tabelle zeigt, welche Technik für verschiedene Probenvolumina empfohlen wird.

Probenaufgabetechnik	**Zu injizierendes Volumen**
Probenschleife manuelles Füllen automatisches Füllen (optional)	 0–2[1] ml 0,1–2[1]
(optional) Direkt auf die Säule unter Verwendung der Systempumpe oder der Pumpe P-960 (optional)	> 1 ml
Superloop (optional)	1–150 ml
(optional) Autosampler[2]	1 µl–500 µl

[1] Bei Teilfüllungen der Probenschleife beträgt das empfohlene Volumen bis zu to 1 ml.
[2] Abhängig vom Autosampler-Modell und der Auswahl der Kapillaren. Siehe *A-900* oder *A-905 User Manual*.

Für Scouting-Läufe

Wenn das Probenvolumen automatisch in einer Reihe von Scouting-Läufen variiert werden muss, kann eine der folgenden Techniken angewandt werden:

- Automatische Teilfüllung der Probenschleife unter Verwendung der Pumpe P-960 (0,1–2 ml).
- Direkte Aufgabe der Probe auf die Säule mit der Pumpe P-960 (> 1 ml).
- Unter Verwendung eines Superloops (1–150 ml).

Die nachfolgenden Abschnitte beschreiben:

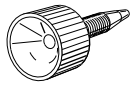
- Aufbringen kleiner Probenvolumina mit einer Probenschleife
- Aufbringen großer Probenvolumina mit einem Superloop

4.4.1 Aufbringen kleiner Probenvolumina mit einer Probenschleife

Die Probenschleife sollte manuell gefüllt werden, bevor die Methode gestartet wird.

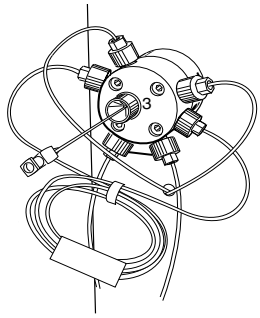
Vorbereitung
Bereiten Sie das Injektionsventil wie folgt vor:

1 Schrauben Sie die mitgelieferte Injection fill port Schraube locker in den Ventilport 3.



2 Führen Sie die mitgelieferte Injektionsnadel (Außendurchmesser 0,7 mm) in den Injektionseinfüllport.

3 Ziehen Sie den Einfüllport fest, bis die Düse eine Dichtung rund um die Nadelspitze gebildet hat (d. h. wenn es sich anfühlt, als ob Sie ein Septum am Ende des Injektionseinfüllports durchstoßen). Die Dichtung sollte ein einfaches Einführen und eine einfache Entfernung der Nadel erlauben.



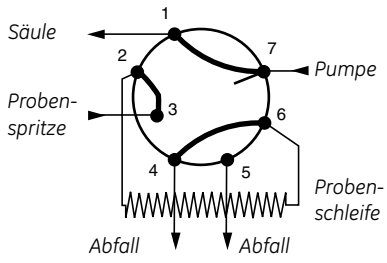
4 Befestigen Sie den Spritzenhalter am Einfüllport.

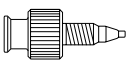
5 Stellen Sie sicher, dass die Abfallleitung an Port 4 des Injektionsventils angeschlossen ist.

6 Bringen Sie die Probenschleife zwischen den Ports 2 und 6 des Injektionsventils an.

Hinweis: *Wenn die Spritze entfernt wird, bevor die Probe auf die Säule injiziert wurde, kann es zu einer Selbstentladung kommen und die Schleife wird entleert.*

Pos. 1 LOAD





Ein Luer-Verbindungsstück mit Innengewinde/1/16" Außengewinde ist im Lieferumfang des ÄKTApurifier enthalten und bietet eine Alternative zum Injektionseinfüllport. Falls verwendet, ersetzt der Luer-Anschluss den Injektionseinfüllport im Port 3 des Injektionsventils.

Die Probenschleifen sind in fünf verschiedenen Größen erhältlich:

Probenschleife	Katalog-Nr.
Schleife 10 µl, 25 MPa	18-1120-39
Schleife 100 µl, 25 MPa	18-1113-98
Schleife 500 µl, 10 MPa	18-1113-99
Schleife 1 ml, 10 MPa	18-1114-01
Schleife 2 ml, 10 MPa	18-1114-02

Wenn Sie die Schleife mit einem Probenvolumen füllen, das dem Schleifenvolumen entspricht, werden ca. 15 % bis 25 % der Probe verloren gehen, da die Geschwindigkeit der Flüssigkeit in den Kapillaren der Probenschleife von einem Maximum an der Achse der Kapillare bis beinahe Null an der Wand der Kapillare variiert. Die genaue Menge der verlorenen Probe hängt von der Förderstromgeschwindigkeit ab.

Zwei Techniken können zum Füllen der Probenschleife verwendet werden: Teilfüllung oder vollständige Füllung.

Art des Füllens	Zu ladendes Volumen
Teilfüllung	Max. 50 % des Probenschleifenvolumens
Vollständige Füllung	Das 2–5-Fache des Probenschleifenvolumens

Teilfüllung

Die Teilfüllung wird verwendet, wenn eine hohe Ausbeute erforderlich ist. Das geladene Probenvolumen sollte maximal 50 % des Schleifenvolumens betragen. Die volumetrische Genauigkeit und Präzision entsprechen denjenigen der Spritze. Die Teilfüllung ermöglicht es, das injizierte Volumen zu ändern, ohne die Schleife zu wechseln, und es wird keine Probe verschwendet. Die Probenschleife muss vollständig mit Pufferlösung gefüllt werden, bevor die Probe geladen werden kann.

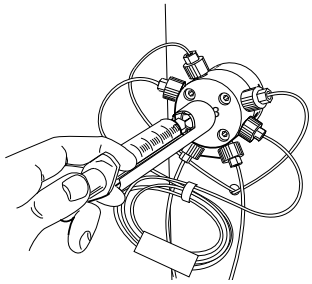
Die Teilfüllung wird folgendermaßen durchgeführt:

Hinweis: *Die Flussrate muss ausgeschaltet sein, bevor Sie den Füllvorgang beginnen.*

1 Stellen Sie das Injektionsventil auf die Position LOAD.

2 Laden Sie die Spritze mit einer großen Menge Pufferlösung (5-Faches des Schleifenvolumens).

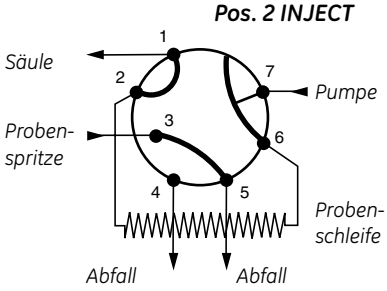
3 Füllen Sie die Probenschleife vorsichtig mit Pufferlösung.



4 Stellen Sie das Injektionsventil auf die Position INJECT, bevor Sie die Spritze entfernen.

Hinweis: *Wenn die Spritze entfernt wird, solange das Injektionsventil auf der Position LOAD steht, kommt es zu einer Selbstentleerung und Luft tritt in die Probenschleife ein.*

Pos. 2 INJECT



5 Laden Sie die Spritze mit dem erforderlichen Probenvolumen.

Hinweis: *Es sollte nicht mehr Probe als die Hälfte (50 %) eines Schleifenvolumens in die Schleife geladen werden.*

6 Setzen Sie die Spritze in den Injektionseinfüllport am Injektionsventil ein. Stellen Sie das Injektionsventil auf die Position LOAD.

Hinweis: *Laden Sie die Probe erst, wenn das Ventil auf der Position LOAD steht.*

7 Laden Sie den Inhalt der Spritze vorsichtig in die Probenschleife.

8 Lassen Sie die Spritze in dieser Position. Die Probe wird auf die Säule injiziert, wenn das Ventil während der Methode auf INJECT umgeschaltet wird.

Hinweis: *Wenn die Spritze entfernt wird, bevor die Probe auf die Säule injiziert wurde, kann es zu einer Selbstentladung kommen und die Schleife wird entleert.*

Vollständige Füllung
Bei dieser Methode wird ein Zuviel an Probe verwendet, um sicherzustellen, dass die Probenschleife vollständig gefüllt wird. Verwenden Sie für die analytische Reproduzierbarkeit ein Probenvolumen, das fünfmal größer als das Volumen der Probenschleife ist. Ca. 2 bis 3 Schleifenvolumina der Probe sind erforderlich, um 95 % des maximalen Schleifenvolumens zu erreichen. Fünf Schleifenvolumina stellen eine verbesserte Genauigkeit sicher.

Bei vollständiger Füllung kann das Probenvolumen nur durch einen Wechsel der Schleifengröße verändert werden.

Die vollständige Füllung wird wie folgt erreicht:

1 Stellen Sie das Injektionsventil auf die Position LOAD.

2 Laden Sie die Spritze mit der Probe (2–5-Faches des Schleifenvolumens).

3 Laden Sie den Inhalt der Spritze vorsichtig in die Probenschleife.

4 Lassen Sie die Spritze in dieser Position. Die Probe wird auf die Säule injiziert, wenn das Ventil während der Methode auf INJECT umgeschaltet wird.

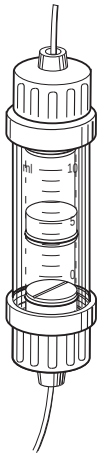
Hinweis: *Wenn die Spritze entfernt wird, bevor die Probe auf die Säule injiziert wurde, kommt es zu einer Selbstentladung und die Schleife wird entleert.*

Leeren der Probenschleife
Wenn Sie die Probenschleife leeren, sollte ein Pufferlösungsvolumen von mindestens dem 5-Fachen des Probenschleifenvolumens verwendet werden, um die Schleife zu spülen und um sicherzustellen, dass die gesamte Probe auf die Säule injiziert wird.

Das zu injizierende Volumen wird über die Variable ***Empty_loop_with*** im Block ***Sample_Injection*** eingestellt.

4.4.2 Aufbringen großer Probenvolumina mit einem Superloop

WARNUNG! Superloop 10 ml und Superloop 50 ml dürfen nicht bei Drücken über 4 MPa (40 bar, 580 psi) verwendet werden. Superloop 150 ml darf nicht über 2 MPa (20 bar, 290 psi) verwendet werden. Bei höheren Drücken könnte das Glasrohr zerspringen.



Ein Superloop ermöglicht die Einleitung größerer Probenvolumina (1–150 ml) auf die Säule. Ein Superloop darf nicht zusammen mit Säulen verwendet werden, die einen Säulendruck erzeugen, der höher ist als derjenige, der in der nachstehenden Tabelle angegeben ist. Wenn der Säulendruck höher ist, muss der Fluss reduziert werden, so dass die Druckgrenze nicht überschritten wird. Stellen Sie die Druckgrenze in der Methode mit der Variablen ***Pressure_limit*** ein.

Ein Superloop ist ein Zubehör, das in drei Größen erhältlich ist:

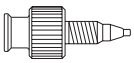
Volumen	Max. zugelassener Säulendruck	Code-Nr.
10 ml	4 MPa	18-1113-81
50 ml	4 MPa	18-1113-82
150 ml	2 MPa	18-1023-85

Die gesamte Probe wird aufgebracht, was zu einer guten Reproduzierbarkeit und einer hohen Ausbeute führt. Die Probe wird nicht verdünnt, da die Pufferlösung, die die bewegliche Dichtung vorwärtsdrückt, von der Probe getrennt bleibt. Die geladene Probe kann auf einmal oder in mehreren kleinen Volumina injiziert werden, bis zu Portionen von 1 ml, was die automatisierte Wiederholung der Probeninjektion erlaubt.

Der Superloop sollte manuell gefüllt werden, bevor die Methode gestartet wird.

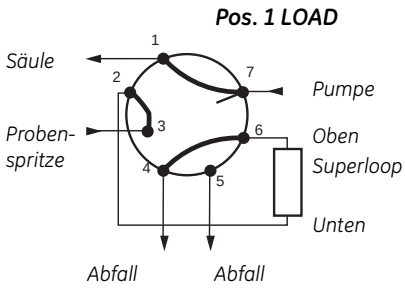
Vorbereitung

Bereiten Sie das Injektionsventil wie folgt vor und schließen Sie den Superloop an:



1 Schließen Sie das Luer-Verbindungsstück mit Innengewinde/ 1/16" Außengewinde an den Port 3 des Injektionsventils an.

2 Stellen Sie sicher, dass die Leitung für den Abfall an Port 4 des Injektionsventils angeschlossen ist.



3 Stellen Sie sicher, dass der Superloop mit Flüssigkeit gefüllt ist (siehe separate Superloop Instruction).

4 Befestigen Sie den Superloop in einem Säulenhalter so nahe am Injektionsventil wie möglich.

5 Schließen Sie die untere Leitung an den Injektionsventilport 2 an.

6 Schließen Sie die obere Leitung an den Injektionsventilport 6 an.

7 Achten Sie darauf, dass alle Anschlüsse mit der Hand fest angezogen werden.

Füllen des Superloop
Das Füllen des Superloop wird wie folgt erreicht:

1 Stellen Sie das Injektionsventil auf die Position INJECT.

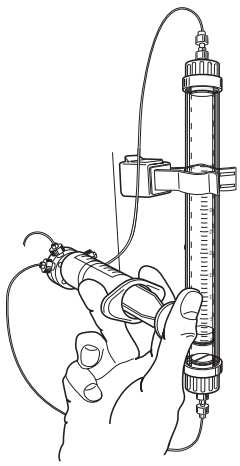
2 Starten Sie die Pumpe P-900 und lassen Sie sie laufen, bis die bewegliche Dichtung den Boden des Superloop erreicht hat.

3 Stoppen Sie die Pumpe P-900 und stellen Sie das Injektionsventil auf die Position LOAD.

4 Laden Sie eine großvolumige Spritze mit Probe.

5 Laden Sie den Inhalt der Spritze vorsichtig durch Port 3 in den Superloop.

6 Lassen Sie die Spritze in dieser Position. Die geladene Probe kann auf einmal oder in mehreren kleinen Volumina injiziert werden, bis zu Portionen von 1 ml.



7 Das zu injizierende Volumen wird über die Variable ***Empty_loop_with*** im Block ***Sample_Injection*** eingestellt.

8 Die Probe wird auf die Säule aufgebracht, wenn das Injektionsventil auf INJECT gestellt wird. Wenn das erforderliche Volumen injiziert wurde, stellen Sie das Ventil auf LOAD.

WARNUNG! Achten Sie darauf, dass die obere Druckgrenze des Systems niedriger ist als der zugelassene Höchstdruck des Superloop.

4.4.3 Mischen von Gradienten

Es gibt zwei verschiedene Techniken zum Mischen von Gradienten. Bei der Standardtechnik werden zwei separate Pufferlösungen verwendet, eine an jedem Pumpenmodul, und die BufferPrep-Technik verwendet vier Lösungen, zwei an jedem Pumpenmodul, wobei die Puffermischung in der Leitung mit einem Umschaltventil vor jedem Pumpenmodul erzeugt wird. Die Mindestflussgeschwindigkeit für BufferPrep beträgt 1,0 ml/min. Die Fördermengen der Pumpenmodule werden zu einem Mischer geleitet.

Die BufferPrep-Methode wird im Abschnitt 5.2 *„BufferPrep"* beschrieben.

Hinweis: *Damit die BufferPrep-Funktion genutzt werden kann, muss der BufferPrep-Satz einschließlich zweier Umschaltventile an der Pumpe installiert werden (siehe Abschnitt 5.2.2 „Installieren des BufferPrep-Satzes").*

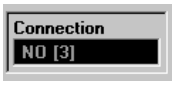
4.5 Vorbereiten des Systems für einen Lauf

4.5.1 Systemanschluss

1 Klicken Sie auf die Schaltfläche ***1. System Control*** in der Taskleiste am unteren Ende des Monitors.

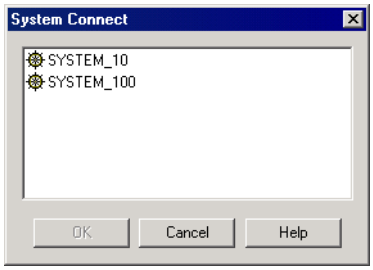
2 Wenn im Feld ***Connection*** im Fenster ***Run Data YES*** angezeigt wird, ist UNICORN mit einem System verbunden. Prüfen Sie, dass es sich um das korrekte System handelt. Der Name des Systems wird in der Titelleiste des Fensters angezeigt.

Wenn es sich um das korrekte System handelt, gehen Sie zu 4.5.2 *„Vorbereiten der Strömungswegkomponenten"*.



3 Wenn das falsche System angeschlossen ist oder wenn das Feld ***Connection NO*** anzeigt, wählen Sie ***System:Disconnect*** und klicken Sie dann auf ***OK***.

4 Wählen Sie ***System:Connect***. Das Dialogfenster System Connect erscheint:



5 Wählen Sie Ihr System aus der Liste. Wenn Sie nicht mit einem Netzwerk verbunden sind, wird nur ein System angezeigt. Klicken Sie auf ***OK***.

6 Wenn das System angeschlossen ist, wird im Feld ***Connection*** im Fenster ***Run Data YES*** angezeigt. Sie müssen das System nur einmal anschließen. Wenn Sie ***System:Disconnect*** **nicht wählen,** werden Sie automatisch mit dem System verbunden, wenn Sie sich das nächste Mal bei UNICORN anmelden.

4.5.2 Vorbereiten der Strömungswegkomponenten

Vorbereiten der Kapillaren

1 Verwenden Sie den korrekten Kapillarensatz für die Säule, die Sie verwenden möchten. Siehe Abschnitt 8.4 *„Empfohlene Kapillaren und Säulen"*. Bei den meisten Säulen kann im ÄKTApurifier 10 der Kapillarensatz mit einem Innendurchmesser von 0,50 und im ÄKTApurifier 100 der Kapillarensatz mit einem Innendurchmesser von 0,75 verwendet werden.

Hinweis: *Wenn Sie Frac-920 zusammen mit dem ÄKTApurifier 10 verwenden, empfehlen wir eine maximale Flussgeschwindigkeit von 3,5 ml/min und den Kapillarensatz mit dem Innendurchmesser von 0,25 mm. Bei höheren Flussgeschwindigkeiten wird aus den Tropfen ein ununterbrochener Flüssigkeitsstrom.*

Hinweis: *Wenn Kapillaren mit einem zu großen Innendurchmesser verwendet werden, werden die Peaks breiter als erforderlich. Wenn Kapillaren mit einem zu kleinen Innendurchmesser verwendet werden, besteht die Gefahr, dass der Gegendruck aus der Kapillare höher als der Maximaldruck der Säule wird und der Lauf sofort nach dem Start anhält*.

2 Tauchen Sie die Einlassleitung A in die Pufferlösung A und die Einlassleitung B in die Pufferlösung B (bzw. A2 und B2, wenn Sie dies in der Methode geändert haben).

3 Stellen Sie sicher, dass die Abfallleitung vom Durchflussbegrenzer in eine leere Abfallflasche gehängt wird.

4 Wenn sich Luft in der Einlassleitung befindet oder wenn Sie Luft in der Pumpe vermuten, entlüften Sie die Pumpe mit einer Spritze wie in 2.4.1 *„Vorbereiten des ÄKTApurifier"* oder im Kapitel 2 im *Pump P-900 User Manual* beschrieben.

5 Wenn eine pH-Wert-Messung gewünscht wird, kalibrieren Sie den ph-Monitor. Siehe UNICORN User Manuals oder *Monitor pH/C-900 User Manual*. Setzen Sie die pH-Elektrode in die Durchflusszelle ein.

Prüfen der Monitore

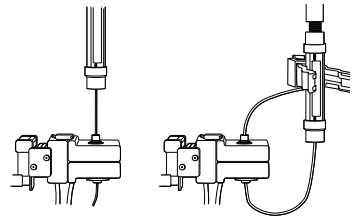
1 Stellen Sie sicher, dass die korrekte UV-Zelle (2 oder 5 mm) und der korrekte Filter installiert sind und die korrekte Wellenlänge in der optischen Einheit eingestellt ist. Siehe Kapitel 2 im *Monitor UPC-900 User Manual*.

2 Stellen Sie sicher, dass der Drucksensor, die Leitfähigkeitszelle und die pH-Elektrode (optional) gemäß den im Abschnitt 6.4 *„Kalibrierungsverfahren"* aufgelisteten Intervallen kalibriert sind.

Anschließen der Säule

UV-900-Monitor: Verbinden Sie die Säule mit dem Injektionsventil, Port 1, und dem Einlassport der UV-Zelle.

UPC-900-Monitor: Der Einlassport der UV-Zelle mit 5 mm befindet sich über der optischen Einheit. Der Einlassport der UV-Zelle mit 2 mm befindet sich unterhalb der Einheit (siehe Abbildung).



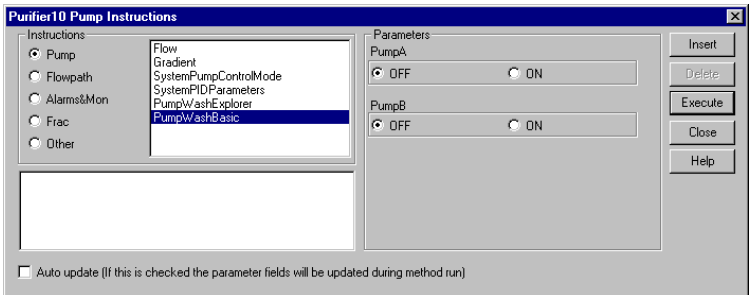
UV-Zelle mit 5 mm *UV-Zelle mit 2 mm*

Füllen der Einlassleitung

1 Klicken Sie auf die Schaltfläche ***System Control*** in der Taskleiste am unteren Bildschirmrand.

2 Füllen Sie die Einlassleitungen mit den korrekten Lösungen, indem Sie ***Manual:Pump*** auswählen.

Wählen Sie die Anweisung ***PumpWash*** und stellen Sie die ***PumpA*** und ***PumpB*** auf ***ON***.



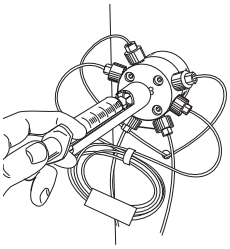
3 Klicken Sie auf ***Execute***, um die Einlassleitungen zu füllen. Das Injektionsventil schaltet während der Pumpenreinigung automatisch auf Abfall.

4 Wenn die Pumpenreinigung abgeschlossen ist, klicken Sie in der Symbolleiste des Fensters System Control auf ***End***.

5 Schließen Sie den Dialog durch Klicken auf ***Close***.

Füllen der Probenschleife oder des Superloop

1 Stellen Sie sicher, dass die korrekte Schleife oder der korrekte Superloop zwischen den Ports 2 und 6 am Injektionsventil angeschlossen ist.



2 Schließen Sie einen Injektionseinfüllport oder ein Luer-Verbindungsstück mit Innengewinde/1/16" Außengewinde an den Port 3 des Injektionsventils an.

3 Bringen Sie die Probe manuell mit einer Spritze ein. Weitere Informationen zum Füllen der Schleifen finden Sie im Abschnitt 4.4 *„Probenaufgabe"*.

Bei der Verwendung eines Fraktionssammlers

1 Prüfen Sie, dass die Kapillare aus dem Durchflussbegrenzer an den Fraktionssammler angeschlossen ist.

2 Führen Sie die Abfallleitung vom Fraktionssammler in eine leere Abfallflasche.

3 Setzen Sie eine ausreichende Anzahl von Röhrchen in den Fraktionssammler ein.

Hinweis: *Das Delay-Volumen (UV-Zelle zum Auslass des Fraktionssammlers) wird nicht bei der Auslieferung des Systems eingestellt, da es von der Länge Ihrer Auslassleitung abhängt. Zum Einstellen des Delay-Volumens in UNICORN, siehe Abschnitt 8.1.6 „Einstellen des Delay-Volumens".*

4.6 Starten eines Laufs

4.6.1 Letzte Prüfungen

Vor dem Starten einer Methode empfehlen wir die Durchführung einer Reihe von Tests, um sicherzustellen, dass nach dem Start des Laufs keine Probleme auftreten.

1 Überprüfen Sie, ob die Einlassleitungen in die korrekten Flaschen für die ausgewählte Methode getaucht sind.

2 Überprüfen Sie, ob eine ausreichende Menge an Eluent verfügbar ist.

3 Überprüfen Sie, dass der Abfallbehälter nicht voll ist und noch Platz für das entsprechende im Lauf anfallende Volumen bietet.

4 Überprüfen Sie, dass die Pumpe entlüftet wurde (d. h. keine Luft in der Einlassleitung). Falls dies nicht der Fall ist, entlüften Sie die Pumpe mit einer Spritze wie in 2.4.1 *„Vorbereiten des ÄKTApurifier"* oder im Kapitel 2 im *Pump P-900 User Manual* beschrieben.

5 Überprüfen Sie, dass die korrekte Säule installiert und äquilibriert wurde (wenn nicht in der Methode eingeschlossen).

6 Überprüfen Sie, dass der korrekte Maximaldruck für die ausgewählte Säule eingestellt ist.

7 Überprüfen Sie, dass die korrekte Mischkammer und die korrekten Kapillaren für die ausgewählte Methode installiert wurden.

8 Prüfen Sie, dass der Fraktionssammler (optional) mit einer ausreichenden Anzahl an Röhrchen versehen ist und an den Durchflussbegrenzer angeschlossen ist.

4.6.2 Einstellen und Starten der Methode

Hinweis: *Screenshots des ÄKTApurifier UPC werden in den Beispielen unten gezeigt*.

1 Klicken Sie auf das Symbol ***System Control***.

2 Wählen Sie ***File:Run....*** Wählen Sie die zu startende Methode. Klicken Sie auf ***OK*** (die Methode startet noch nicht).

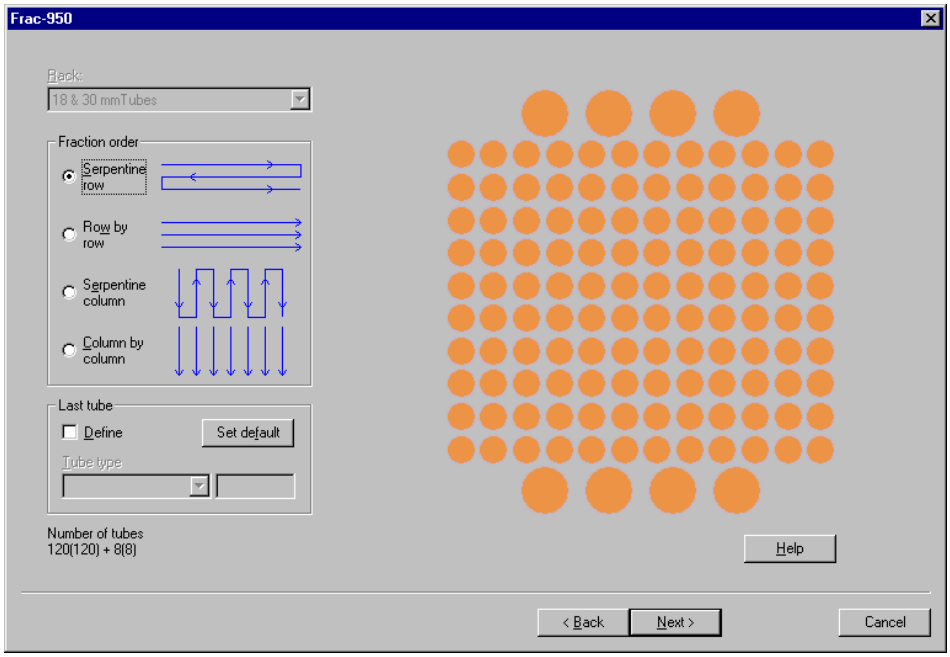
Die Methode wird auf einer Reihe von Seiten in Run Setup in System Control initiiert.

Hinweis: *Nur die Seiten, die im Start Protocol für die Methode eingestellt wurden, erscheinen während der Initialisierung. Einige der Seiten werden nachstehend kurz beschrieben.*

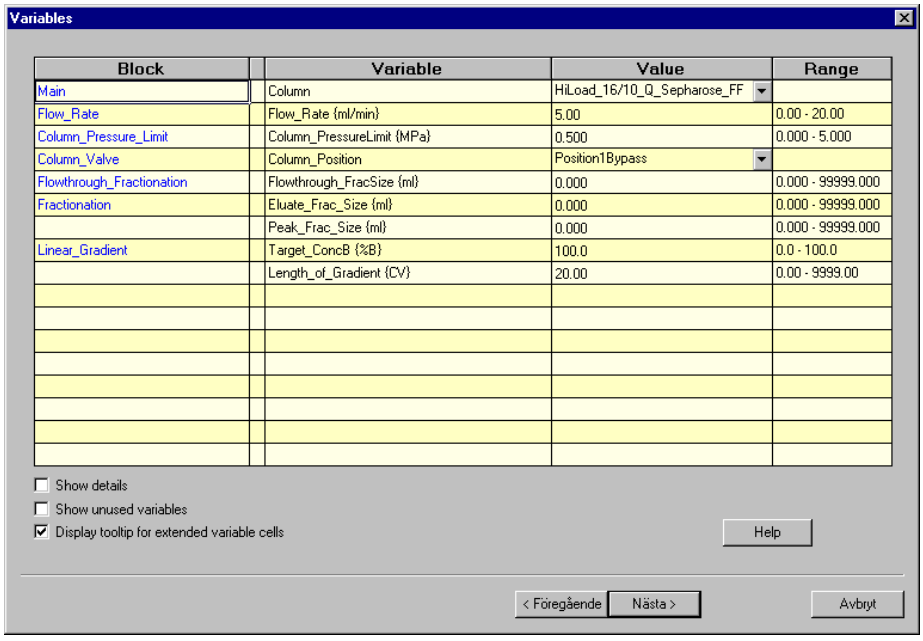
Wenn Sie mit einer Seite fertig sind, klicken Sie auf ***Next***, um zur nächsten Seite zu gelangen.

3 Wenn Sie Frac-950 verwenden, erscheint die Seite ***Frac-950***, wenn sie im Start Protocol ausgewählt wurde.

Auf der Seite Frac-950 können Sie die Reihenfolge der Fraktionierung bestimmen und das letzte verwendete Röhrchen einstellen. Das System wird angehalten, wenn das letzte Röhrchen erreicht ist, und die Fraktionierung stoppt.



4 Die Seite ***Variables*** ist dieselbe wie im Method Editor. Hier können Sie die Methode bestätigen und Feinabstimmungen vornehmen, bevor Sie fortfahren. Dies ist sehr praktisch, wenn Sie Läufe mit kleinen Anpassungen wiederholen.



Einige Variablen sind normalerweise ausgeblendet. Haken Sie das Kästchen ***Show details*** an, um sie anzuzeigen.

5 Auf der Seite ***Evaluation Procedures*** wählen Sie die automatisierten Vorgänge aus, die das System nach dem Lauf durchführen soll. Wählen Sie ***Print_Chromatogram*** aus, um nach dem Lauf einen automatischen Ausdruck zu erhalten.

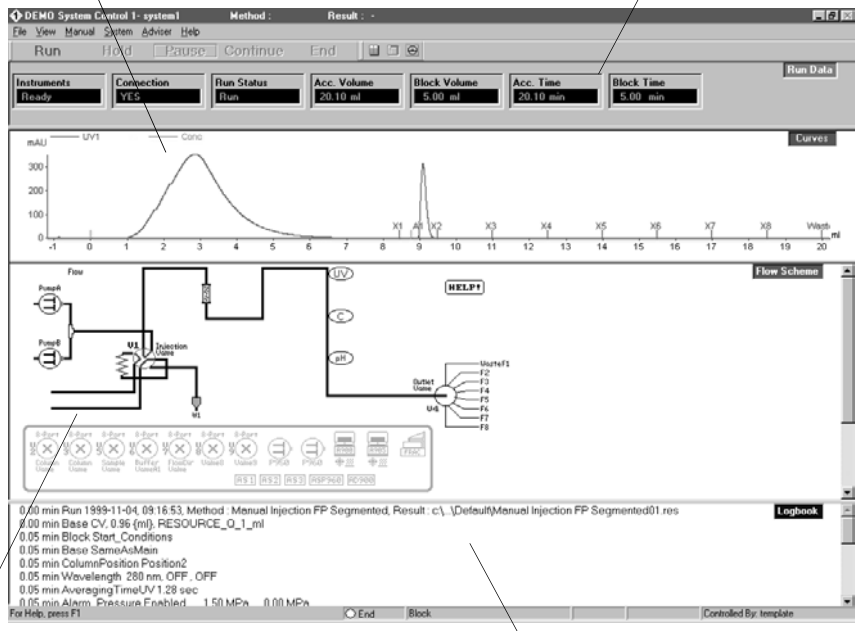
6 Die Seite ***Method Information*** enthält eine Zusammenfassung der Informationen zum Lauf. Unter dem Registerreiter ***Method Duration*** werden das durchschnittliche Volumen der verwendeten Pufferlösung (A+B) und die Dauer der Methode angezeigt.

7 Auf der Seite ***Result Name*** benennen Sie die Ergebnisdatei und legen fest, wo sie gespeichert werden soll. Standardmäßig entspricht die Bezeichnung der Ergebnisdatei entweder der Bezeichnung der Methode, dem Datum des Laufs oder einer vorher festgelegten Bezeichnung. Die Bezeichnung der Methode wird mit einer dreistelligen Laufnummer, beginnend mit 001 ergänzt. Sie können diese Bezeichnung ändern und ein neues Verzeichnis wählen, indem Sie auf ***Browse..*** klicken.

8 Klicken Sie auf ***START***. Der Lauf startet. Sie können den Lauf im Modul ***System Control*** anzeigen.

Das Fenster Curves zeigt die Kurven während des Laufs

Das Fenster Run Data zeigt die aktuellen Werte für die Laufparameter



Das Flow Scheme ist eine graphische Darstellung des Systemströmungsweges

Das Fenster Logbook zeigt an, wann die Anweisungen der Methode während des Laufs durchgeführt werden

4.7 Während eines Laufs

4.7.1 Überwachen des Laufs

Anzeigen des Fortschritts
Der Fortschritt der verwendeten Methode kann in Einzelheiten in UNICORN angezeigt werden und der Status bestimmter Parameter der Instrumentenmodule kann direkt auf ihrem Frontdisplays angezeigt werden.

Das Modul ***System Control*** in UNICORN zeigt den aktuellen Status des ÄKTApurifier und kann bis zu vier Fenster zur Überwachung der verschiedenen Aspekte des Laufs anzeigen.

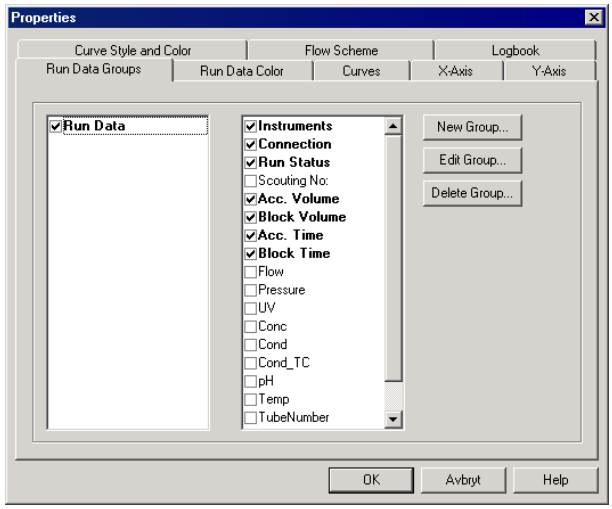
Klicken Sie auf die Schaltfläche ***Customize panes*** in der Systemleiste oder wählen Sie ***View:Panes*** aus dem Menü, um auszuwählen, welche Fenster angezeigt werden sollen.

Run Data
Das Fenster Run Data zeigt die aktuellen Werte für ausgewählte Laufparameter.

Zum Anpassen des Fensters ***Run Data***:

1 Klicken Sie mit der rechten Maustaste in das Fenster ***Run Data*** und wählen Sie ***Properties*** oder wählen Sie ***View:Properties*** aus dem Menü ***System Control***.

2 Wählen Sie die Laufdaten, die angezeigt werden sollen, und klicken Sie auf ***OK***.

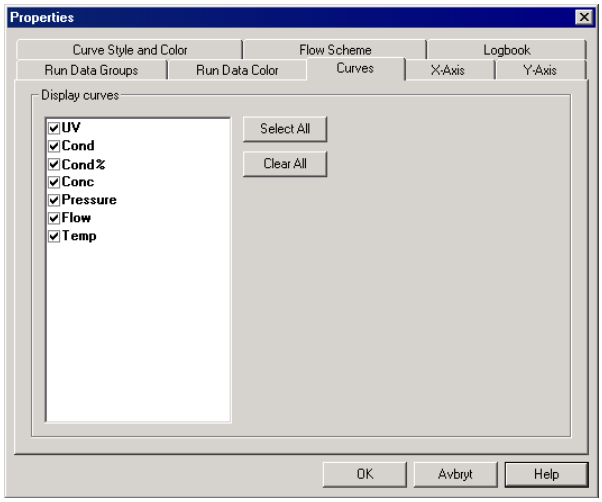


Curves
Das Fenster Curves zeigt die Monitorsignalwerte graphisch.

Zum Anpassen des Fensters ***Curves***:

1 Klicken Sie mit der rechten Maustaste in das Fenster ***Curves*** und wählen Sie ***Properties...*** oder wählen Sie ***View:Properties*** aus dem Menü ***System Control***, um die Kurven auszuwählen, die angezeigt werden sollen. Alle Kurven werden stets in der Ergebnisdatei gespeichert.

2 Klicken Sie auf die verschiedenen Registerkarten im Fenster ***Curve Properties***, um die Eigenschaften für die verschiedenen Kurven einzustellen. Normalerweise wird der Maßstab der Kurven mit der automatischen Maßstabswahl festgelegt, d. h. der Maßstab wird immer wieder an die höchsten und niedrigsten Werte für jede Kurve angepasst.



3 Um den Maßstab der Y-Achse für eine Kurve festzulegen, klicken Sie auf ***Y-axis***, dann auf ***Fixed*** und geben dann die Minimal- und Maximalwerte ein. Sie können dies für die anderen Kurven wiederholen. Klicken Sie auf ***OK***.

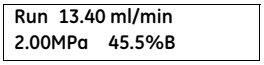
4 Um das Fenster ***Curve Data*** zu maximieren, setzen Sie den Cursor in das Fenster ***Curve Data***. Klicken Sie mit der rechten Maustaste und wählen Sie ***Maximize***. Zur normalen Größe gelangen Sie durch Klicken auf ***Restore*** zurück.

5 Um zum Maßstab für eine andere Kurve zu gelangen, klicken Sie auf die Skala der Y-Achse oder klicken Sie auf den Namen der Kurve oben im Fenster ***Curve Data***. Die Farbe einer Kurve, die Skalierung ihrer Y-Achse und ihre Bezeichnung sind immer gleich. Klicken Sie auf die x-Achse, um zwischen Zeit und Volumen zu wechseln.

Flow scheme
Das Flow Scheme ist eine graphische Darstellung des Strömungsweges im Chromatographiesystem. Während eines Laufs zeigt das Strömungsschema die offenen Strömungswege und die Monitorsignale mit numerischen Anzeigen.

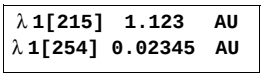
Logbook
Alle Aktionen und unerwarteten Zustände wie Warnungen werden für jeden Lauf mit Angabe des Datums, der Uhrzeit und des aktuellen Benutzernamens protokolliert. Das Logbook liefert den vollständigen Ablauf jedes vorgegebenen Laufs. Das Protokoll wird in der Ergebnisdatei gespeichert.

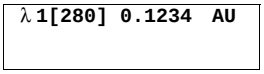
Frontdisplay
Die Frontdisplays des UV-900-Monitors, des UPC-900-Monitors und der Pumpe P-900 können so eingestellt werden, dass sie ihren aktuellen Status anzeigen. In jedem Fall zeigt das Display für das Hauptbedienungsmenü die wichtigsten Parameter.



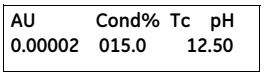
Das Hauptbedienungsmenü der Pumpe P-900 zeigt die aktuelle Flussgeschwindigkeit zusammen mit der Angabe des Modus, des Drucks und %B, falls verwendet. Die verfügbaren Modi sind:

Run	Die Pumpe läuft mit der eingestellten Durchflussgeschwindigkeit.
End	Das System läuft nicht.
Pause	Die Pumpe wurde angehalten, aber die eingestellten Werte für Durchflussgeschwindigkeit und Gradient werden beibehalten.
Hold	Der Gradient wird auf dem angezeigten Wert gehalten und die Pumpe läuft weiter. Die Methode wird auf ihrem aktuellen Status gehalten.

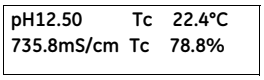




ÄKTApurifier: Das Hauptbedienungsmenü des UV-900-Monitors zeigt die Absorptionswerte mit 4 Stellen für bis zu 3 aktive Wellenlängen. Zur Anzeige für die dritte Wellenlänge gelangen Sie durch Drehen des Einstellrades im Uhrzeigersinn. Es ist auch möglich, alle drei Wellenlängen gleichzeitig anzuzeigen, indem Sie das Einstellrad einen Schritt weiter drehen (nur drei Stellen).



ÄKTApurifier UPC: Das Hauptbedienungsmenü 1 des UPC-900-Monitors zeigt die Absorptionswerte mit 6 Stellen für die ausgewählte Wellenlänge, die Leitfähigkeit als Prozentsatz des Vollausschlags und den pH-Wert (optional).



Wenn Sie das Einstellrad um eine Raste drehen, wird eine alternative Darstellung der Leitfähigkeit gezeigt (Hautpmenü 2). Diese Darstellung zeigt den pH-Wert, die Temperatur und den tatsächlichen Leitfähigkeitswert in mS/cm oder µS/cm zusammen mit dem Prozentanteil.

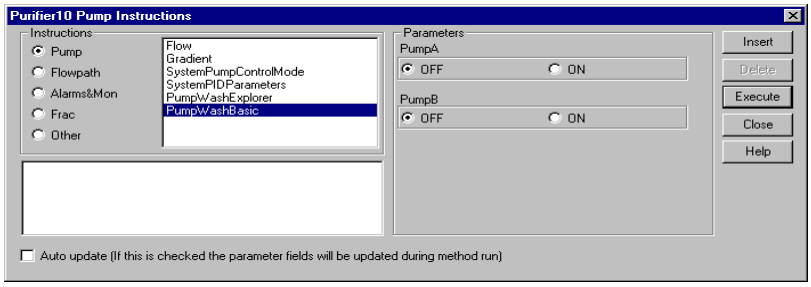
4.7.2 Verändern der Parameter

Ausgehend von UNICORN
ÄKTApurifier kann durch manuelle Anweisungen gesteuert werden, die vom Menü ***Manual*** im ***System Control*** in UNICORN ausgegeben werden. Diese Anweisungen können während eines Laufs verwendet werden, um Systemeinstellungen als Reaktion auf die erhaltenen Ergebnisse zu ändern.

Das Menü ***Manual*** in ***System Control*** öffnet ein Dialogfenster, das der Instruction-box im Method Editor ähnlich ist.

Beispiel: Zum Ändern der Durchflussgeschwindigkeit:

1 Wählen Sie ***Manual:Pump***. Der Dialog ***Instructions*** wird geöffnet.



2 Wählen Sie ***Pump*** und dann ***Flow***.

3 Geben Sie unter ***Parameters*** eine neue Durchflussgeschwindigkeit ein und klicken Sie dann auf ***Execute***. Die neue Durchflussgeschwindigkeit wird bis zum Ende des Laufs verwendet oder bis eine neue Anweisung zur Durchflussgeschwindigkeit in der Methode erreicht wird.

4 Schließen Sie das Kästchen durch Klicken auf ***Close***. Alle manuellen Eingriffe werden im ***Logbook*** gespeichert.

Einige Anweisungen, zum Beispiel Anweisungen zu Gradienten oder Fraktionen können etwas Zeit benötigen, bis sie abgeschlossen sind.

Um den Lauf anzuhalten, bevor er abgeschlossen ist, klicken Sie auf die Schaltfläche ***End*** oben.

Ausgehend von den Modulen
Manuelle Änderungen können auch an der Pumpe und an den UV-Monitoren mit dem Wählrad durchgeführt werden.

Manuelle Änderungen in UNICORN oder an den Modulen sind gleichbedeutend. Manuelle Eingriffe werden normalerweise im Logbook gespeichert. Drei verschiedene Zugriffsmodi für das Wählrad an den Modulen können eingestellt werden:

- ***Open*** – Das Wählrad am Modul kann für manuelle Änderungen verwendet werden.
- ***KeyLocked*** – Das Wählrad am Modul kann verwendet werden, um verschiedene Menüs zu wählen, aber es kann nicht dazu verwendet werden, Parameter zu verändern.
- ***KeyAndDialLocked*** – Weder eine Menüauswahl noch Parameterveränderungen können durchgeführt werden.

Zur Auswahl des Zugriffsmodus:

1 Wählen Sie ***System settings*** in ***System Control*** und dann ***Specials:Keyboard***.

2 Wählen Sie ***Open***, ***KeyLocked*** oder ***KeyAndDialLocked***.

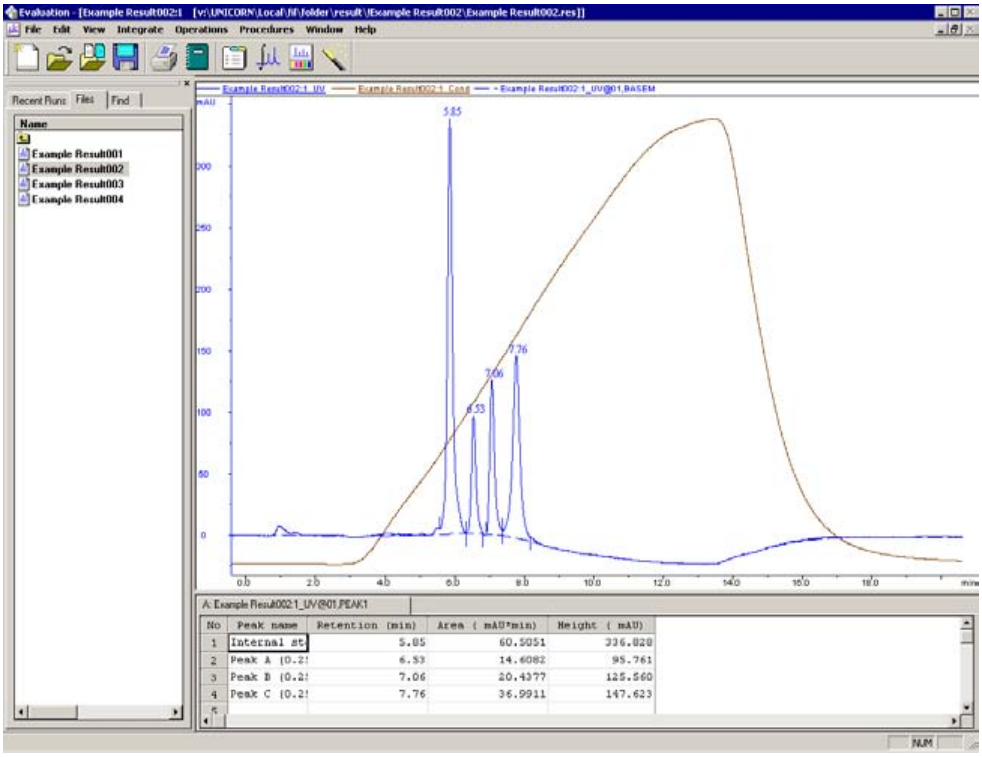
4.8 Anzeigen und Ausdrucken des Ergebnisses

Wenn Sie mit dem nach dem Lauf erhaltenen automatischen Ausdruck (wenn ausgewählt) zufrieden sind, müssen Sie nichts ändern, was in diesem Abschnitt beschrieben wird. Wenn Sie jedoch das Layout des Chromatogramms ändern wollen, lernen Sie in diesem Abschnitt die Grundlagen des Moduls ***Evaluation*** kennen.

4.8.1 Anzeigen

1 Nach einem Lauf können Sie das Ergebnis anzeigen. Klicken Sie auf das Symbol ***UNICORN Manager***. Führen Sie einen Doppelklick auf das Symbol für die Ergebnisdatei in der rechten Liste aus.

2 Das Fenster ***Chromatogram*** wird automatisch im Evaluation-Arbeitsbereich geöffnet, wenn Sie eine Ergebnisdatei öffnen. Das Fenster ***Chromatogram*** enthält alle Kurven. Beachten Sie, dass der Begriff Chromatogramm hier verwendet wird, wenn wir von dem gesamten Fenster sprechen, das alle verschiedenen Kurven enthält.



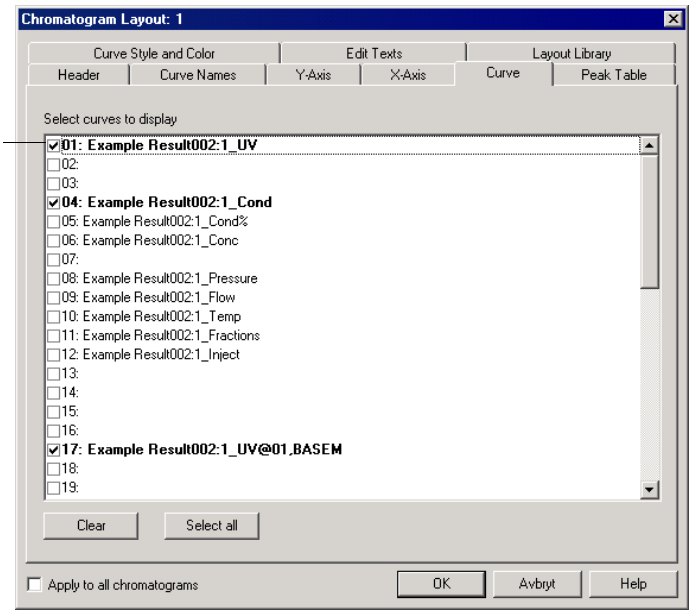
Die Ergebnisdatei eines Laufs umfasst ein vollständiges Protokoll des Laufs, einschließlich Methode, Systemeinstellungen, Kurvendaten und Laufprotokoll.

Hinweis: *Originaldatenkurven können niemals verändern, umbenannt oder aus einer Ergebnisdatei gelöscht werden.*

3 Maximieren Sie das Fenster ***Chromatogram*** durch Klicken auf das Quadrat in der oberen rechten Ecke.

4 Alle Veränderungen in Bezug auf die Darstellung der Kurven werden im Fenster ***Chromatogram Layout*** vorgenommen. Setzen Sie den Cursor in das Fenster ***Chromatogram***. Klicken Sie mit der rechten Maustaste und wählen Sie ***Properties....*** oder wählen Sie ***Edit: Chromatogram layout...***, um dieses Fenster zu aktivieren.

Anzuzeigende Kurven anhaken



5 Wählen Sie die Kurven, die angezeigt werden sollen, unter ***Curves***. Die Kurven werden als ***Result001:1_„Kurve"*** bezeichnet, wobei eine Kurve zum Beispiel UV_wavelength (UV-Wellenlänge), pressure (Druck)...etc. sein kann. Klicken Sie auf ***OK*** unten im Fenster ***Chromatogram Layout***.

6 Um die Kurven zu vergrößern, klicken und ziehen Sie im Chromatogramm mit der linken Maustaste. Ein Rechteck erscheint auf dem Bildschirm. Wenn Sie die Maustaste loslassen, wird der Teil innerhalb des Rechtecks vergrößert. Sie können den vergrößerten Teil noch weiter vergrößern.

Um zum kompletten Chromatogramm zurückzukehren, führen Sie einen Klick mit der rechten Maustaste aus und wählen ***Undo*** oder ***Reset zoom***.

7 Um zu einem Maßstab für eine andere Kurve zu wechseln, klicken Sie auf die Skala der ***Y-axis***. Die Art und Farbe einer Kurve, die Skalierung ihrer Y-Achse und ihrer X-Achse können geändert werden.

8 Öffnen Sie erneut das Fenster ***Chromatogram Layout***. Klicken Sie auf die Registerkarten ***Y-axis*** und ***X-axis***, um die Maßstäbe für die verschiedenen Kurven einzustellen. Normalerweise werden die Maßstäbe der Kurven mit der automatischen Maßstabswahl festgelegt (d. h. der Maßstab wird immer wieder an die höchsten und niedrigsten Werte für jede Kurve angepasst).

9 Um den Maßstab der Y-Achse festzulegen, markieren Sie eine Kurve, klicken Sie auf ***Fixed*** und geben dann die Minimal- und Maximalwerte für diese Kurve ein. Sie können dies für andere Kurven wiederholen.

10 Um den Maßstab der X-Achse festzulegen,klicken Sie auf ***Fixed*** im Feld der X-Achse und geben dann die Minimal- und Maximalwerte für diese X-Achse ein. Klicken Sie auf ***OK.***

11 Klicken Sie auf ***OK*** unten im Fenster ***Chromatogram Layout***, um alle Änderungen auszuführen.

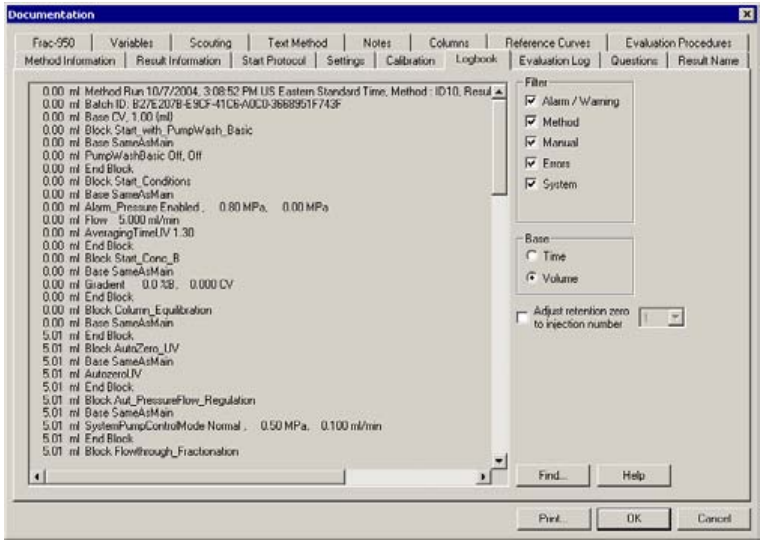
12 Wenn Sie die erforderlichen Änderungen im Fenster Chromatogram Layout vorgenommen haben, können Sie diese als neues Layout speichern:

- Klicken Sie auf den Registerreiter ***Layout Library*** oben im Fenster ***Chromatogram Layout***.
- Klicken Sie auf ***Save current layout as*** und geben Sie eine Bezeichnung ein. Klicken Sie auf ***OK***.

  Layouts können in ***Save current layout*** ausgewählt werden, alle Ihre gespeicherten Auswahlen werden angewendet. Gespeicherte Layouts können auf jede Ergebnisdatei angewendet werden.

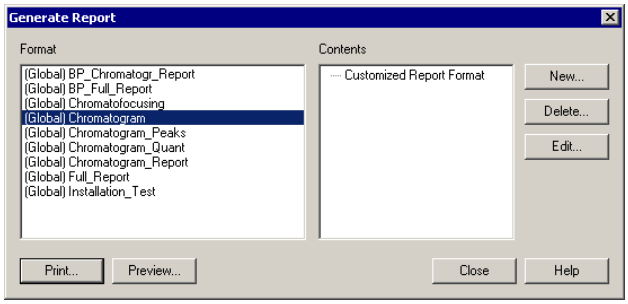
13 Minimieren Sie das Fenster Chromatogram durch Klicken auf die kleinen Quadrate in der oberen rechten Ecke.

14 Klicken Sie auf die Schaltfläche ***View Documentation***. Eine Reihe von Seiten erscheint wie im Run Setup im Method Editor. Die gesamte Dokumentation über den Lauf wird hier gespeichert, z. B. die Methode, Antworten auf Fragen, Variable, Logbook... etc. Klicken Sie zum Beispiel auf die Seiten ***Notes*** und ***Logbook*** und sehen Sie sich die Inhalte an. Schließen Sie das Fenster ***Documentation*** durch Klicken auf das ***X*** in der oberen rechten Ecke.



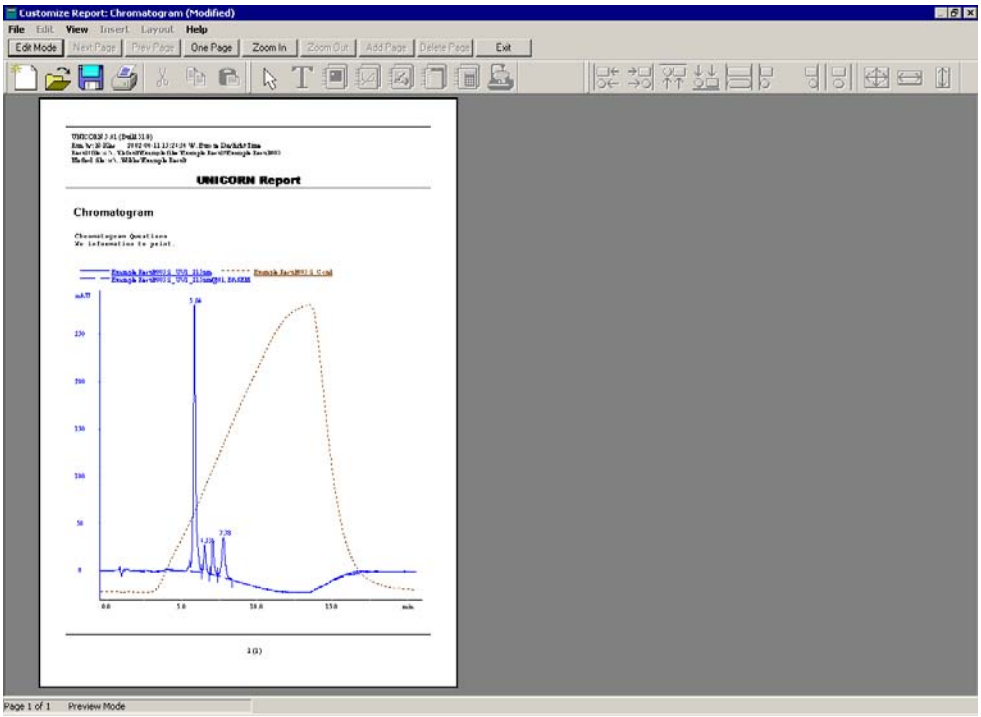
4.8.2 Drucken und Erstellen eines Berichts

1 Zum Drucken des Chromatogramms wählen Sie ***File:Report***. Der Dialog ***Generate Report*** wird geöffnet.



2 Wählen Sie zum Beispiel das Format ***(Global) Chromatogram.*** Es wird ein Bericht erstellt, der das Chromatogramm und die Fragen auf einer Seite enthält.

3 Klicken Sie auf ***Preview***, um den Bericht auf dem Bildschirm anzuzeigen.



Hinzufügen von Informationen zum Bericht

1 Klicken Sie auf ***Edit Mode***, um Änderungen im Report zuzulassen.

2 Um eine leere Seite zum Bericht hinzuzufügen, klicken Sie auf ***Add Page***.

3 Wählen Sie aus dem Menü ***Insert*** das Element, das aufgenommen werden soll. Die verfügbaren Elemente sind:

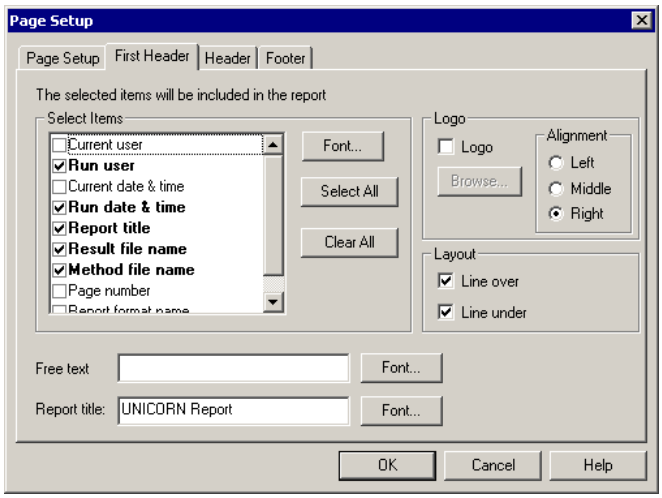
- Freier Text
- Bild
- Methode
- Chromatogramm
- Dokumentation
- Auswertungsprotokoll
- Quantiative Bestimmung und Molekülgröße (optional)
- Frac-950 (optional).

4 Bewegen Sie den Mauszeiger in den Seitenbereich des Fensters Sie werden feststellen, dass der Mauszeiger ein zusätzliches Symbol entsprechend der Elementart hat, die Sie einfügen möchten.

5 Klicken und ziehen Sie, um ein Kästchen der gewünschten Größe zu erzeugen. Lassen Sie die Maustaste los. Ein für die Art des eingefügten Elements spezifischer Dialog wird angezeigt. Wählen Sie die entsprechenden Elemente im Dialog aus und klicken Sie dann auf ***OK***, um das eingefügte Element zu sehen.

Seitenlayout ändern

1 Wenn Sie das Seitenlayout ändern möchten, wählen Sie ***Edit:Page Setup***. Der Dialog ***Page Setup*** öffnet sich und Sie können zum Beispiel die Seitengröße und Elemente, die in der Kopf- oder Fußzeile eingefügt werden sollen, auswählen. Die hier ausgewählten Informationen werden im Bericht gedruckt. Klicken Sie auf ***OK***.



2 Klicken Sie auf ***Print***, um den Bericht zu drucken.

4.8.3 Drucken aller Methodenanweisungen mit Erklärungen

1 Wählen Sie ***Method Editor:File*** und klicken Sie auf ***Print***. Ein Fenster mit Anweisungen, die gedruckt werden können, öffnet sich.

2 Stellen Sie sicher, dass das Kästchen ***Instruction Set*** angehakt ist, und löschen Sie unerwünschte Elemente.

3 Klicken Sie auf ***Print***, um die Anweisungen zu drucken.

4.9 Abschluss eines Laufs und Lagerung

Die Ventile wechseln nach einem Lauf wieder in die Standardpositionen (d. h. Position 1).

4.9.1 Lagerung

Über Nacht: Lassen Sie das System isokratisch bei geringer Durchflussgeschwindigkeit laufen (ca. 10 % der verwendeten Durchflussgeschwindigkeit).
Wochenende und langfristige Lagerung: Spülen Sie das System mit Wasser und füllen Sie es dann mit 20 %-igem Ethanol (nicht die pH-Elektrode, falls verwendet, siehe separate Anweisungen im *Optional Configurations ÄKTApurifier User manual*).

4.10 Betrieb im Kühlraum

Der Betrieb im Kühlraum ist manchmal erforderlich, um die jeweiligen Biomoleküle stabil zu halten.

4.10.1 Vorbereitung

1 Stellen Sie die Trenneinheit in den Kühlraum.

2 Stellen Sie den Computer außerhalb des Kühlraums auf. Ein 15 m langes UniNet-Kabel ist als Zubehör erhältlich und sollte verwendet werden, um den Computer mit der Trenneinheit zu verbinden.

3 Lassen Sie die Trenneinheit sich bei der neuen Temperatur mindestens 12 h lang stabilisieren.

4 Ziehen Sie alle Anschlüsse fest und pumpen Sie Wasser durch das System, um es auf Undichtigkeiten zu untersuchen.

5 Ziehen Sie undichte Anschlüsse fest.

4.10.2 Betrieb im Kühlraum

Bevor Sie einen Lauf starten, prüfen Sie, ob die Temperatur der Pufferlösungen die Umgebungstemperatur erreicht hat.

4.10.3 Entfernung aus dem Kühlraum

1 Lösen Sie alle Anschlüsse, um zu verhindern, dass sie festsitzen, wenn das System wieder Raumtemperatur erreicht.

2 Lassen Sie die Trenneinheit sich bei Raumtemperatur mindestens 12 h lang stabilisieren.

3 Ziehen Sie alle Anschlüsse fest und pumpen Sie Wasser durch das System, um es auf Undichtigkeiten zu untersuchen.

4 Ziehen Sie undichte Anschlüsse fest.

5 Optionale Funktionen

In diesem Kapitel wird beschrieben, wie optionale Funktionen beim Betrieb des ÄKTApurifier verwendet werden.

5.1 Mischen von Gradienten

5.1.1 Gradienten

Es gibt zwei verschiedene Techniken zum Mischen von Gradienten. Bei der Standardtechnik werden zwei separate Pufferlösungen verwendet, eine an jedem Pumpenmodul, und die BufferPrep-Technik verwendet vier Lösungen, zwei an jedem Pumpenmodul, wobei die Pufferlösung in der Leitung mit einem Umschaltventil vor jedem Pumpenmodul erzeugt wird. Die Mindestflussgeschwindigkeit für BufferPrep beträgt 1,0 ml/min. Die Fördermengen der Pumpenmodule werden zu einem Mischer geleitet.

Die BufferPrep-Methode wird im Abschnitt *5.2 „BufferPrep"* beschrieben.

5.1.2 Mischer

WARNUNG! Werden gefährliche Chemikalien verwendet, spülen Sie die Mischkammer gründlich mit destilliertem Wasser, bevor Sie sie entfernen.

Der Mischer wird mit einer Mischkammer der Größe 0,6 ml geliefert. Er kann mit Gradientenvolumina bis zu 5 ml (binäre Gradienten) verwendet werden.

Das empfohlene Mindestgradientenvolumen für jede Mischkammer ist in der nachstehenden Tabelle angegeben:

Mischkammervolumen	**Empfohlenes Mindestgradientenvolumen**	
	Binärer Gradient	**BufferPrep-Gradient**
0,6 ml	5 ml	–
2 ml	16 ml	60 ml
5 ml	38 ml	80 ml
12 ml	90 ml	113 ml

Wenn Sie Eluenten verwenden, die schwieriger zu mischen sind wie zum Beispiel Isopropanol und Wasser, kann ein größeres Mischervolumen verwendet werden, um eine optimale Vermischung zu erreichen.

Hinweis: *Wenn die pH- und Leitfähigkeitskurven auf eine ungleichmäßige Vermischung Ihrer Pufferlösungen hindeuten (unstetige Kurven), verwenden Sie eine größere Mischkammer.*

Hinweis: *Stellen Sie immer die Flaschen mit Pufferlösung unterhalb des Mischers auf, wenn Sie die Mischkammern auswechseln, um ein Auslaufen zu verhindern.*

5.2 BufferPrep

5.2.1 Was ist BufferPrep?

BufferPrep macht die zeitaufwändige manuelle Vorbereitung und Titration der Pufferlösungen überflüssig, die normalerweise bei jeder pH-Änderung in der Chromatographie erforderlich sind. BufferPrep berechnet und bereitet für jeden eingegebenen pH-Wert und für jede Salzkonzentration automatisch die Zusammensetzung der Pufferlösung in der Leitung aus vier Stammlösungen vor. Lineare und Stufensalzgradienten können verwendet werden und der pH-Wert kann als variabler Scouting-Parameter verwendet werden.

Hinweis: *Damit die BufferPrep-Funktion genutzt werden kann, muss der BufferPrep-Satz einschließlich zweier Umschaltventile an der Pumpe installiert werden (siehe Abschnitt* 5.2.2 *„Installieren des BufferPrep-Satzes“ und Abschnitt* 8.8 *„Bestellinformationen“).*

BufferPrep ist für die Verwendung bei der Entwicklung von Methoden für die Ionenaustauschchromatographie optimiert, kann aber auch für die Größenausschluss- und für die Affinitätschromatographie verwendet werden.

Die vier Stammlösungen bestehen aus:

1 Einer Mischung der Pufferkomponenten. Bis zu fünf verschiedene Pufferkomponenten mit bis zu jeweils drei pKa-Werten, die die Abdeckung eines breiten pH-Bereichs erlauben.

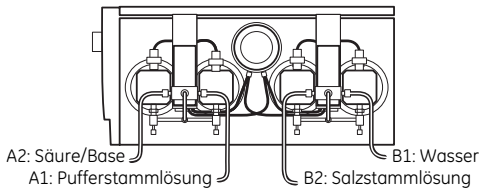
2 Einer Säure (HCl) oder Base (NaOH) für die Titration des pH-Werts in der Leitung.

3 Destilliertem Wasser.

4 Einem inerten Salz (z. B. NaCl oder KCl) für die Bildung des Elutionsgradienten.

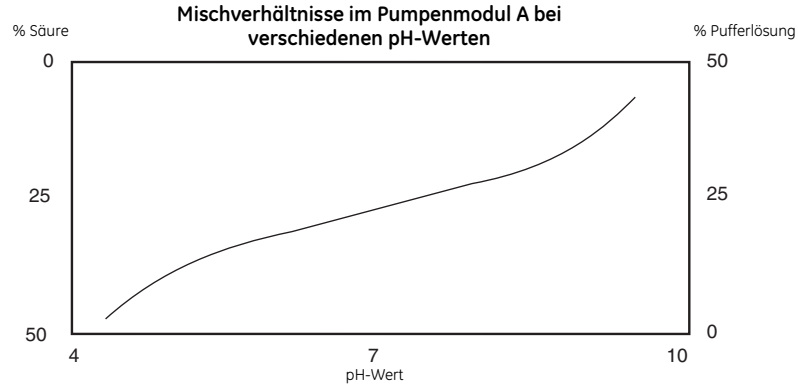
BufferPrep gleicht die pKa-Verschiebung mit veränderter Ionenstärke und Temperatur aus. Eine Reihe vorgegebener Rezepte sind vorhanden. Es können auch neue Rezepte erstellt werden, siehe Abschnitt *8.5*.

Der pH-Wert wird ausgehend vom Pumpenmodul A und die Salzkonzentration ausgehend vom Pumpenmodul B erzeugt. Die Stammlösungen, die die Mischung der Pufferkomponenten und das HCl oder NaOH enthalten, werden an das Pumpenmodul A angeschlossen. Die Stammlösungen, die das Salz und das Wasser enthalten, werden an das Pumpenmodul B angeschlossen. Ein Umschaltventil an jedem Pumpenmodul zusammen mit den BufferPrep-Algorithmen erzeugt die korrekten Mischverhältnisse für den eingestellten pH-Wert. Jedes Pumpenmodul liefert 50 % der eingestellten Gesamtflussrate.



Pumpenmodul A

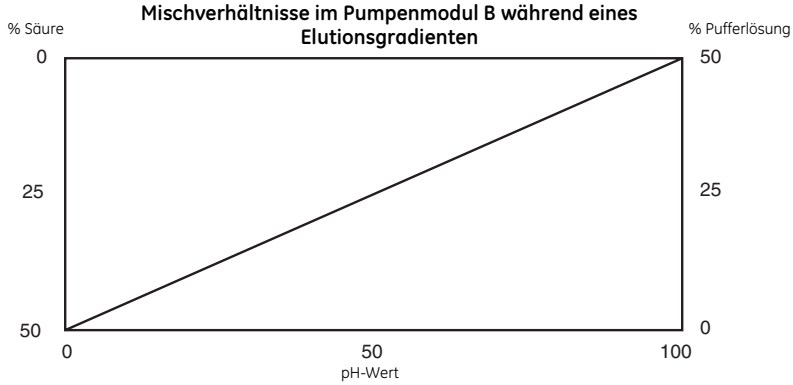
Um einen eingestellten pH-Wert zu erreichen, werden die Pufferstammlösung und die Stammlösung mit der Säure/Base mit dem Umschaltventil in einem Verhältnis gemischt, das von den Puffersubstanzmerkmalen beim eingestellten pH-Wert abhängt. Ein Beispiel für die Mischverhältnisse zwischen den zwei Stammlösungen wird nachstehend gezeigt.



Beachten Sie, dass die Form der Mischverhältniskurve sich für verschiedene Puffersubstanzen unterscheidet.

Pumpenmodul B

Um den eingestellten Gradienten zu erreichen, werden die Eluentenstammlösung und Wasser mit dem Umschaltventil in einem Verhältnis gemischt, das von der programmierten Eluentenkonzentrationsvariation während der Elution abhängt.



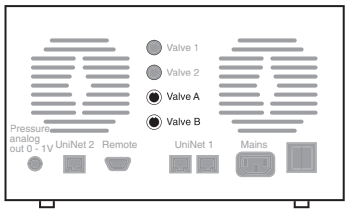
5.2.2 Installieren des BufferPrep-Satzes

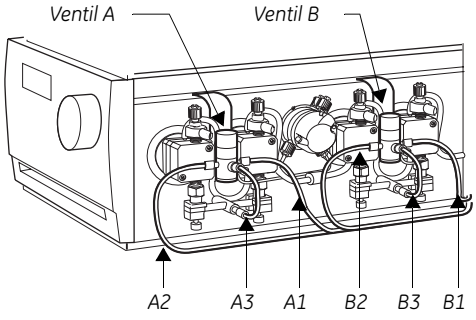
Der BufferPrep-Satz enthält:

- zwei Ventile mit Ventilhaltern
- Leitungen und Anschlüsse für ÄKTApurifier 10 (Innendurchmesser 1,6 mm, gelbe Endringe)
- Leitungen und Anschlüsse für ÄKTApurifier 100 (Innendurchmesser 2,9 mm, blaue Endringe)

Installieren des Satzes

1 Setzen Sie die zwei Umschaltventile zwischen die entsprechenden Pumpenköpfe, indem Sie die Haken in die Rillen in der Pumpe einführen.

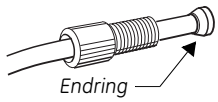




2 Schließen Sie das Kabel des Ventils A an die Buchse ***Valve A*** an der Rückseite der Pumpe an und das Kabel des Ventils B an die Buchse ***Valve B***.

3 Wählen Sie die für Ihr System vorgesehenen Leitungen und Anschlüsse.

4 Schließen Sie die zwei kurzen Leitungen unter Verwendung der mitgelieferten Anschlüsse und Endringe an Position A3 und B3 an (siehe Abbildung oben). Beachten Sie die Richtung der Endringe!



5 Schließen Sie die vier langen Leitungen an die Position A1, A2, B1 und B2 an.

Einstellen des UNICORN für BufferPrep
Um die BufferPrep-Funktion in UNICORN zu aktivieren, müssen die Umschaltventile als Komponenten gewählt werden.

1 Wählen Sie in ***UNICORN Manager Administration:System Setup***.

2 Wählen sie im Dialog ***System Setup*** Ihr System und klicken Sie auf ***Edit***.

3 Klicken Sie im Dialog ***Edit System*** auf ***Component***.

4 Klicken Sie im Dialog ***Component*** auf ***Switch valves***.

5 Klicken Sie zweimal auf ***OK*** und schließlich auf ***Close***.

5.2.3 Strategie für die Verwendung von BufferPrep

BufferPrep sollte verwendet werden, um schnell den optimalen pH-Wert für Ihr Proteinreinigungsverfahren zu finden. Verwenden Sie es wie folgt:

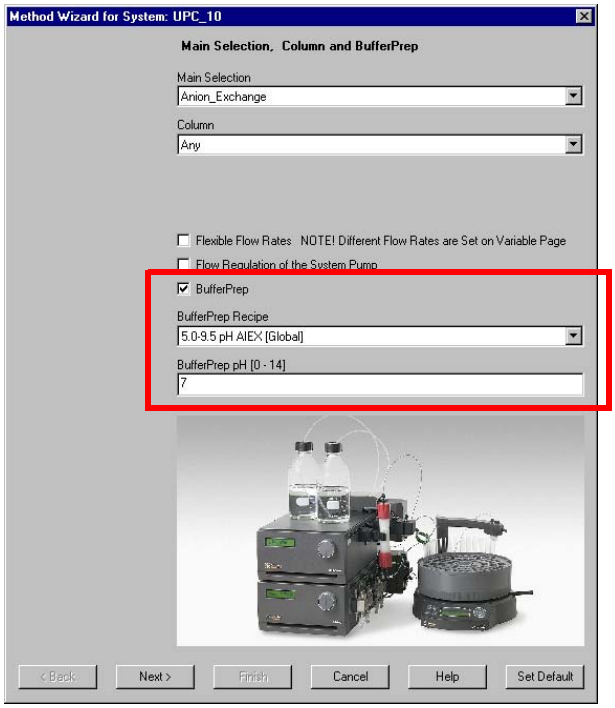
1 Beginnen Sie mit einem Rezept, das einen breiten pH-Bereich abdeckt, und suchen Sie in Schritten von zum Beispiel 0,5–1 pH-Einheiten nach dem geeigneten pH-Wert.

2 Wählen Sie den pH-Wert aus, der die besten Ergebnisse liefert.

3 Fahren Sie mit dem Rezept für den breiten pH-Bereich fort oder wechseln Sie zu einem Rezept mit einer einzelnen Pufferlösung innerhalb des pH-Bereichs, das die besten Ergebnisse geliefert hat.

5.2.4 Erstellen einer Methode für pH-Scouting

1 Erstellen Sie eine neue Methode im Method Wizard durch die Auswahl von ***BufferPrep*** auf der ersten Seite. Wählen Sie auch aus, welches Rezept Sie verwenden möchten, und den erwünschten pH-Wert.



5.2.5 Vorbereiten des Systems für einen BufferPrep-Lauf

1 Kalibrieren Sie den pH-Monitor. Siehe dazu
ÄKTApurifier: *Monitor pH/C-900 User Manual*
ÄKTApurifier UPC: *Monitor UPC-900 User Manual.*
Für Präzisionsmessungen sollte die Kalibrierung mit der pH-Elektrode in der Durchflusszelle bei der Durchflussgeschwindigkeit durchgeführt werden, die im Scouting-Lauf verwendet wird.

2 Bereiten Sie die erforderlichen Lösungen vor. Für Einzelheiten zur Vorbereitung und zu den Lösungen wählen Sie ***View:Run Setup*** im ***Method Editor*** und klicken Sie auf die Registerkarte ***BufferPrep***.

Einlass A1: Pufferstammlösung
Einlass A2: HCl oder NaOH
Einlass B1: H_2O
Einlass B2: Eluentenstammlösung

3 Füllen Sie manuell die Einlassleitung mit Stammlösung unter Verwendung der Anweisung ***PumpWash*** in UNICORN.

4 Wenn die Herstellung des Gleichgewichts nicht in der Methode programmiert ist, stellen Sie das Gleichgewicht im System manuell ohne Säule mit dem eingestellten pH-Wert her, bevor Sie den Lauf starten.

- Wählen Sie in ***System Control Manual:Other*** und klicken Sie auf ***BufferPrep_Recipe***.
- Wählen Sie dasselbe Rezept wie in der Methoden aus. Klicken Sie auf ***Execute***.
- Wählen Sie ***Pump*** und wählen Sie ***BufferPrep_pH*** und geben Sie denselben pH-Wert wie in der Methode eigestellt ein. Klicken Sie auf ***Execute***.
- Stellen Sie eine Durchflussgeschwindigkeit ein und klicken Sie auf ***Execute***.

5 Klicken Sie auf die Seite Variables. Verwenden Sie (mindestens) die Äquilibrierungsvolumina, die in der nachstehenden Tabelle aufgelistet sind, um einen stabilen pH-Messwert zu erreichen. Die Mischkammer der Größe 0,6 ml ist im Lieferumfang des Systems enthalten, andere Mischkammern sind optional.

System	Mischkammer-volumen [ml]	Äquilibrierungs-volumen [ml]
ÄKTApurifier 10	0,6	9
	2	14
ÄKTApurifier 100	0,6	20
	2	30
	5	50
	12	100

6 Bei der Durchführung eines pH-Scouting sollte die Probe wenn möglich einen pH-Wert haben, der nahe dem höchsten pH-Wert im Scouting-Lauf für AIEX und dem niedrigsten pH-Wert für CIEX liegt. Die Leitfähigkeit der Probe sollte unter 5 ms/cm liegen.

7 Speichern Sie die Methode.

5.2.6 Feinabstimmung

Um eine höhere pH-Genauigkeit zu erreichen, kann das Rezept um einen spezifischen pH-Wert herum fein abgestimmt werden. Wenn Sie das Scouting für einen breiten pH-Bereich durchführen, ist die Feinabstimmung weniger nützlich. Führen Sie BufferPrep manuell bei 0 und 100 %B wie folgt aus:

1 Wählen Sie ausgehend vom Menü ***System Control:Manual*** das Rezept unter ***Other***, ***BufferPrep_pH*** und ***Flow*** unter ***Pump***. Starten Sie einen Lauf manuell bei 0 % B. Stellen Sie sicher, dass das Umschaltventil korrekt auf den Einlass A1 eingestellt ist.

2 Prüfen Sie den pH-Messwert, wenn er stabil ist.

3 Wechseln Sie zu 100 %B durch Einstellung der Anweisung ***Gradient*** in ***Manual:Pump*** auf 100 %B für ***Target*** und 0 für ***Length***. Klicken Sie auf ***Execute***.

4 Prüfen Sie den pH-Messwert, wenn er bei 100 %B stabil ist.

5 Wenn der Messwert sowohl bei 0 als auch bei 100 %B akzeptabel ist, kann der Lauf gestartet werden.

6 Wenn der pH-Messwert nicht akzeptabel ist, wählen Sie ***Correction Factors*** auf der Seite ***BufferPrep*** des Method Editor. Geben Sie die pH-Abweichung bei 0 und 100 %B ein. (Wenn zum Beispiel der pH-Wert auf 7 eingestellt wurde und der tatsächliche pH-Wert bei 7,1 liegt, geben Sie 0,1 ein, oder wenn der tatsächliche pH-Wert bei 6,9 liegt, geben Sie –0,1 ein). Wenn standardmäßige Korrekturfaktoren bestehen, addieren Sie die gemessene Abweichung zu diesen Faktoren.

7 Speichern Sie die Methode.

Hinweis: *Die neuen Korrekturfaktoren gelten nur, solange diese Methode verwendet wird. Wenn eine neue Methode erstellt wird und ein Rezept ausgewählt wird, gelten standardmäßige Korrekturfaktoren. Zum Ändern der standardmäßigen Korrekturfaktoren für ein Rezept siehe Abschnitt 8.5.4.*

5.2.7 Erstellen Ihrer eigenen Rezepte

Siehe Abschnitt 8.5.1 *„Erstellen Ihrer eigenen Rezepte"* für Einzelheiten zur Erstellung von Rezepten oder Bearbeitung bestehender Rezepte.

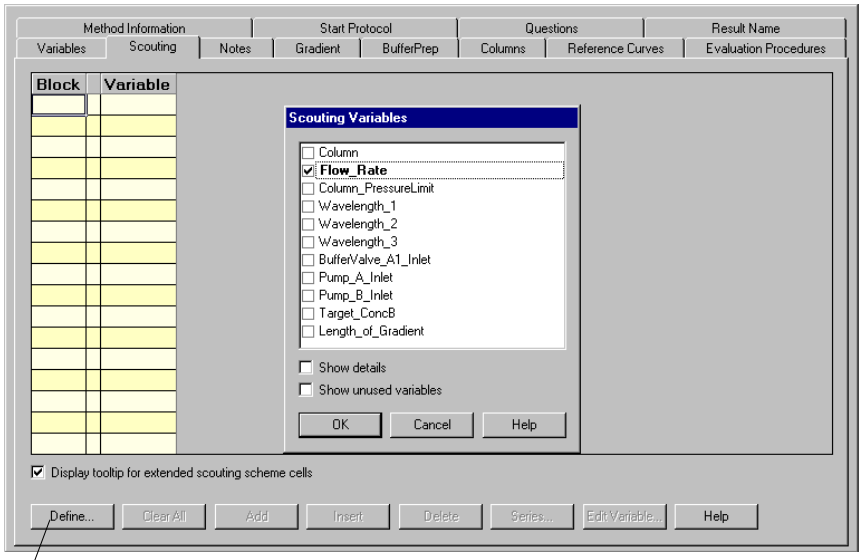
5.3 Scouting

Das Scouting ermöglicht es, dass beliebige Laufparameter (z. B. Durchfluss-geschwindigkeit) automatisch in wiederholten Läufen systematisch variiert werden.

Nachstehend finden Sie eine Beschreibung der Durchführung eines Scoutings der Durchflussgeschwindigkeit

1 Erstellen Sie eine neue Methode wie in Abschnitt *4.2 „Erstellen einer Methode" beschrieben.*

2 Wenn das Fenster ***Run Setup*** erscheint, klicken Sie auf die Registerkarte ***Scouting***.



Andere Scouting-Variablen definieren

3 Eine Liste aller Variablen erscheint. Wählen Sie die Variable ***Flow_Rate*** und jede andere Variable, die Sie verändern möchten (z. B. ***Peak_Frac_Size***).

4 Klicken Sie auf ***OK***. Die ausgewählten Scouting-Variablen erscheinen auf der linken Seite zusammen mit eingefügten Standardwerten.

5 Werte für eine Variable, die für das Scouting ausgewählt wurden, erscheinen auf der Seite ***Variables*** in grau und können dort nicht geändert werden.

6 Um einen Variablenwert zu verändern, setzen Sie den Cursor in das Feld für den Wert Run und führen Sie mit der linken Maustaste einen Doppelklick aus. Geben Sie den neuen Wert ein.

Block		Variable	Run1
Flow_Rate		Flow_Rate {ml/min}	1.000

7 Um für den nächsten Lauf eine Tabellenspalte hinzuzufügen, klicken Sie auf ***Add***. Es erscheint eine zweite Spalte mit einer Kopie der Werte aus dem vorherigen Lauf. Ändern Sie gegebenenfalls die Werte.

8 Wenn Sie nach einer bestimmten Spalte im Scouting-Schema eine neue Spalte einfügen möchten, setzen Sie den Cursor in die Spalte und klicken Sie auf ***Insert***. Eine neue Spalte mit identischen Werte erscheint direkt hinter der ausgewählten Spalte.

9 Wiederholen Sie Schritt 6, bis Sie alle Läufe definiert haben, die Sie benötigen. Falls erforderlich, verwenden Sie den waagrechten Scrollbalken, um mehr Läufe zu sehen.

10 Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf ***Run1***, ***Run2***, etc. oben in der Aufstellung, um für die verschiedenen Läufe zwischen ***Run*** und ***Excluded*** umzuschalten. Diejenigen, die mit ***Excluded*** gekennzeichnet sind, werden nicht durchgeführt. Nun haben Sie ein Scouting-Schema festgelegt.

11 Um die Scouting-Methode zu speichern, wählen Sie ***File:Save***.

12 Wenn die Methode gestartet wird, werden automatisch alle Läufe im Schema durchgeführt und der eingestellte Durchfluss für jeden Lauf wird automatisch vorbereitet. Jeder Lauf im Scouting-Schema liefert eine separate Ergebnisdatei, die alle in einem speziellen Scouting-Verzeichnis gespeichert werden.

5.4 Zusätzliche Systemdruckmessung

Bei Niederdrucksäulen wie HiTrap und HiLoad ist es erforderlich, den Vorsäulendruck durch Messung des Druckes in Abwesenheit der Säule auszugleichen. Dies wird durch das folgende Verfahren erreicht:

1 Stellen Sie das Injektionsventil (INV-907) auf die Position WASTE.

2 Lassen Sie die Pumpe mit der vorgeschriebenen oder gewünschten Durchflussgeschwindigkeit laufen.

3 Notieren Sie den Gegendruck am Pumpendisplay oder im Fenster ***Run Data*** UNICORN.

4 Addieren Sie diesen Wert zum Druckgrenzwert für die Säule (z. B. 0,5 MPa für HiLoad oder 0,3 MPa für HiTrap).

Der neue Gesamtdruckwert (gemessener Druck + max. Säulendruck) muss in die UNICORN-Säulenliste hinzugefügt und als persönliche Säule definiert werden:

1 Wählen Sie im ***Method Editor Edit:Column list***, um den Dialog ***Column List*** zu öffnen. Wenn Sie auf eine Säule in der Liste klicken, werden ihre Parameter im Feld rechts des Kastens angezeigt.

2 Klicken Sie auf ***Edit,*** um den Dialog ***Edit Column*** anzuzeigen. Geben Sie in der Spalte ***Parameter*** in das Feld für ***Max pressure*** den neuen Systemgrenzwert ein, 0,5 MPa + gemessener Wert.

3 Klicken Sie auf ***Save as*** und geben Sie eine neue Bezeichnung Ihrer Säule ein. Sie können die Säule allgemein (d. h. für alle Benutzer verfügbar) speichern, indem Sie das Kästchen ***Save as global*** anhaken. Wir empfehlen jedoch, das Kästchen ***Save as global*** in diesem Fall nicht auszuwählen. Klicken Sie auf ***OK***.

Weitere Informationen siehe *UNICORN User Manuals*.

5.5 Durchflussregelung

Die Durchflussregelung der Systempumpe wird verwendet:

- um die erforderliche Durchflussgeschwindigkeit der Pumpe aufrechtzuerhalten
- um sicherzustellen, dass die maximale Druckgrenze nicht überschritten wird.

Die Durchflussregelung ist bei Anwendungen nützlich, bei denen ein hoher Gegendruck zu erwarten ist, oder wenn der Gegendruck schwankt, zum Beispiel wenn Proben mit hoher Viskosität verwendet werden.

5.5.1 Regelungsprinzip

An der Abstimmung der Systempumpe sind zwei Regler beteiligt. Der erste ist aktiv, solange der Druck unter dem Sollwert liegt. Dieser Regler passt die tatsächliche Durchflussgeschwindigkeit der Pumpe an die eingestellte Durchflussgeschwindigkeit an. Wenn der Druck den Sollwert überschreitet, vermindert ein anderer Regler die Durchflussgeschwindigkeit, um den Druck zu verringern. Wenn der Druck unter den Sollwert fällt, passt der erste Regler wieder die tatsächliche Durchflussgeschwindigkeit an die eingestellte Durchflussgeschwindigkeit an und so fort.

Die Regler verwenden die so genannte PID-Durchflussreglung, wobei P, I und D Parameter sind, die die Abstimmungskriterien bestimmen. Die standardmäßigen PID-Werte in UNICORN liefern eine stabile Durchflussregelung, die für die meisten Zwecke geeignet ist. Die Parameter können jedoch für eine spezielle Anwendung weiter optimiert werden (siehe 5.5.4 *„Optimieren der PID-Parameter“*).

5.5.2 Aufnehmen der Durchflussregelung in eine Methode

Method Wizard

Die Durchflussregelung ist standardmäßig nicht aktiv, wenn Sie eine Methode mit dem Method Wizard erstellen.

Zur Aufnahme der Durchflussregelung:

1 Wählen Sie ***Flow Regulation of the System Pump*** auf der ersten Seite im Method Wizard.

2 Geben Sie geeignete Grenzwerte für den Druck und die Durchflussgeschwindigkeit ein (siehe nachfolgenden Abschnitt).

Hinweis: *Einschalten der Durchflussregelung bedeutet, dass die selbsttätige Regelung in UNICORN aktiviert wird. Sie wird nur während der Probenaufgabe und der Auswaschung der ungebundenen Probe aktiviert.*

Aufnehmen der Durchflussregelung in eine bestehende Methode

1 Wählen Sie ***View: Run Setup*** im ***Method Editor***.

2 Klicken Sie auf die Registerkarte ***Variables*** und wählen Sie ***Show details***.

3 Wählen Sie im Block ***Aut_PressureFlow_Regulation*** den Modus ***PressFlowControl*** für die Variable ***System_Pump***.

4 Geben Sie den Druckgrenzwert in ***System_PressLevel*** ein (wählen Sie einen Wert knapp unter dem Druckgrenzwert der Säule) und den zugelassenen Mindestdurchfluss in ***System_MinFlow***.

Diese Parameterwerte sowie die PID-Parameterwerte können später separat geändert werden, indem Sie ***System:Settings*** in ***System Control*** auswählen.

Hinweis: *Wenn die Durchflussgeschwindigkeit unter den Wert System_MinFlow fällt, wird ein Alarm ausgelöst und das System auf Pause gestellt. Daher empfehlen wir die Verwendung einer Anweisung Watch (WatchPar_Flow), die über diesem Wert aktiviert wird. Eine geeignete Maßnahme muss sich im nächsten Block fortsetzen.*

Um Druckspitzen bei der Fortsetzung zu vermeiden, verwenden Sie eine geringere Durchflussgeschwindigkeit nach der Anweisung Watch als vor der Anweisung Watch.

5.5.3 Manuelle Anweisungen zur Durchflussregelung

Die Durchflussregelung kann auch verwendet werden, wenn die Systempumpe manuell verwendet wird. Die Anweisungen finden Sie im Modul ***System Control*** durch Auswahl von ***Manual:Pump***, und sie werden in Tabelle 5-1 erklärt.

Anweisung	Parameterbeschreibung
SystemPumpControlMode	Zur Aktivierung der Durchflussregelung wählen Sie ***PressFlowControl***. ***PressLevel*** ist der zugelassene Höchstdruck. ***MinFlow*** ist die zugelassene Mindestdurchfluss-geschwindigkeit.
SystemPIDParameters	***Flow_P***, ***Flow_I*** und ***Flow_D*** sind die Parameter zur Anpassung der tatsächlichen Durchflussge-schwindigkeit an die eingestellte Durchflussge-schwindigkeit. Aktivieren Sie unten den Wert ***PressLevel***. ***Press_P***, ***Press_I*** und ***Press_D*** sind die Parameter zur Verringerung der Durchflussgeschwindigkeit und damit zur Verminderung des Drucks unter den Drucksollwert. Aktivieren Sie oben den Wert ***PressLevel***.

Tabelle 5-1. Anweisungen für die Durchflussregelung

5.5.4 Optimieren der PID-Parameter

Die zwei Regler für die Systempumpe haben separate PID-Parameter. Die standardmäßigen PID-Parameter in UNICORN liefern eine stabile Durchflussregelung, die für die meisten Zwecke geeignet ist.

Hinweis: *Die PID-Parameter sollten nur von erfahrenen Benutzern geändert werden.*

Die nachstehende Tabelle beschreibt die drei PID-Parameter.

Parameter	Beschreibung
P	Der Parameter **P** verringert die Wirkung eines Fehlers, aber eliminiert diesen nicht vollständig. Ein einfacher P-Regler führt zu einem stabilen Fehler zwischen tatsächlichem und gefordertem Durchfluss.
I	Der Parameter **I** eliminiert den stationären Fehler, führt aber zu einer leichten Instabilität, die zu Schwankungen im tatsächlichen Durchfluss führen kann. Der I-Parameter kann Werte zwischen 0 und unendlich haben. Kleinere Werte haben eine größere Wirkung und ein unendlicher Wert hat keine Wirkung. *Hinweis:* Unendlich wird in UNICORN als 9999 eingestellt.
D	In bestimmten Fällen kann der Parameter **D** die durch einen PI-Regler verursachten Schwankungen verringern. D kann Werte zwischen 0 und unendlich haben, wobei größere Werte eine größere Wirkung haben und ein Wert 0 keine Wirkung hat. *Hinweis*: In den meisten Fällen ist ein einfacher PI-Regler für die Steuerung der Durchflussgeschwindigkeit vorzuziehen, daher ist ÄKTApurifier standardmäßig mit einem auf Null eingestellten D-Parameter konfiguriert.

Tabelle 5-2. PID-Parameter

Faustregeln für die Optimierung der PID-Parameter:

- Verwenden Sie die standardmäßigen PID-Parameter aus Ausgangswerte. Um die Standardwerte einzustellen, wählen Sie ***System:Settings*** im Modul ***System Control*** und dann ***Specials***. Wählen Sie den PID-Parameter, der wiederhergestellt werden soll, und klicken Sie auf ***Set Selected Parameter To Strategy Default Value***.
- Lassen Sie den D-Parameter auf Null eingestellt (d. h. verwenden Sie einen einfachen PI-Regler).
- Starten Sie die Pumpe, bevor Sie den Regler aktivieren.
- Eine Erhöhung des Wertes P macht den Regler schneller.
- Eine Erhöhung des Wertes I verringert Schwankungen.

6 Wartung

6.1 Regelmäßige Wartung

Eine regelmäßige Wartung trägt dazu bei, die reibungslose Funktion Ihres ÄKTApurifier aufrechtzuerhalten. Beachten Sie die Empfehlungen in diesem Kapitel, um das System in einem betriebsfähigen Zustand zu halten.

Lassen Sie keine verschüttete Flüssigkeit auf dem Gerät trocknen. Reinigen Sie die Oberfläche regelmäßig mit einem feuchten Tuch. Lassen Sie das Gerät vor dem Betrieb vollständig trocknen.

Für Einzelheiten zur Durchführung der Wartungsarbeiten und für den Austausch von Komponenten siehe die einzelnen User Manuals und Instructions.

6.1.1 Allgemeine Sicherheitsvorkehrungen

WARNUNG! Bei Wartungsmaßnahmen muss vor dem Austausch von Systemkomponenten immer die Stromzufuhr unterbrochen werden.

WARNUNG! Wenn die Gefahr besteht, dass große Mengen verschütteter Flüssigkeiten in das Gehäuse des Geräts eindringen und in Kontakt mit den elektrischen Bauteilen kommen können, ist sofort das Netzkabel auszustecken und ein zugelassener Wartungstechniker zu verständigen.

WARNUNG! Werden gefährliche Chemikalien verwendet, so ist vor der Durchführung von Instandhaltungs- und Wartungsmaßnahmen das gesamte System gründlich mit bakteriostatischer Lösung (z.B. NaOH) und destilliertem Wasser durchzuspülen.

WARNUNG! Nur Ersatzteile, die von GE Healthcare zugelassen sind oder geliefert werden, dürfen für die Wartung oder Instandsetzung des Systems verwendet werden.

VORSICHT! Stellen Sie bei der Instandhaltung und bei der Durchführung von Wartungsarbeiten am System immer die Flaschen mit Pufferlösung auf den Labortisch, um ein Auslaufen zu verhindern.

6.1.2 Recycling und Entsorgung

Dieses Symbol zeigt an, dass elektrische und elektronische Komponenten nicht als unsortierter Hausmüll entsorgt werden dürfen, sondern getrennt entsorgt werden müssen. Informationen zur Außerbetriebnahme Ihrer Ausrüstung erhalten Sie bei einem autorisierten Vertreter oder beim Hersteller.

6.1.3 Wartungsplan

Abstand	**Maßnahme**
Jeden Tag	
System	• Prüfen Sie das gesamt System auf ein Auslaufen des Elutionsmittels. • Das Systems kann mit Pufferlösung gefüllt über Nacht stehen gelassen werden. Wenn Sie die Trenneinheit einige Tage nicht verwenden, reinigen Sie den Strömungsweg mit destilliertem Wasser. Entfernen Sie die Säule und die pH-Elektrode (optional). Ersetzen Sie die Säule durch eine Kapillare und setzen Sie die Dummy-pH-Elektrode ein (falls zutreffend). Reinigen Sie dann das System mit 20 %-igem Ethanol und lagern Sie es in 20 %-igem Ethanol. Stellen Sie sicher, dass alle Kapillaren und alle Strömungswege gereinigt werden.
Pumpe P-900	• Überprüfen Sie die Pumpe auf Undichtigkeiten. Wenn Sie Zeichen für eine Undichtigkeit zwischen dem Pumpenkopf und dem Seitenteil des Gehäuses oder ein erhöhtes oder verringertes Volumen der Spüllösung erkennen, ersetzen Sie die Kolbendichtungen. Siehe Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual*. • Beim Wechseln des Eluenten ist es wichtig, eingeschlossene Luft zu entfernen. Entlüften Sie die Pumpe entsprechend Kapitel 2 im *Pump P-900 User Manual*. Wenn sich noch Luft in der Einlassleitung befindet, stoppen und entlüften Sie die Pumpe entsprechend 5 im *Pump P-900 User Manual*. ***Hinweis**: Wenn Luft in die Säule gelangen kann, kann ihre Leistung negativ beeinflusst oder zerstört werden.*
pH-Elektrode (optional)	• Kalibrieren Sie die pH-Elektrode (optional). Siehe Abschnitt 6.4 unter *„Kalibrierungsverfahren“*.

Abstand	**Maßnahme**
Jede Woche	
Einlassfilter	• Führen Sie eine Sichtkontrolle der Einlassfilter durch und tauschen Sie sie gegebenenfalls aus.
Pumpenspüllösung	• Wechseln Sie die Pumpenspüllösung aus. Verwenden Sie immer 20 %-iges Ethanol als Spüllösung. • Wenn sich das Volumen der Spüllösung in der Standflasche erhöht hat, kann dies ein Hinweis auf eine Undichtigkeit im Inneren der Pumpe sein. Wechseln Sie die Kolbendichtungen entsprechend Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual* aus. • Wenn sich das Volumen der Spüllösung in der Standflasche deutlich verringert hat, prüfen Sie, ob die Anschlüsse des Spülsystems korrekt eingebaut sind. • Wenn die Anschlüsse des Spülsystems nicht undicht sind, sind möglicherweise die Spülmembranen oder die Kolbendichtungen undicht. Wechseln Sie die Membranen und die Kolbendichtungen entsprechend Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual* aus.
Reinigung	• Reinigen Sie das System, siehe *6.2 Reinigen der Oberfläche des Systems*.
Lüfter	• Prüfen Sie, dass alle Lüfter funktionieren.
Jeden Monat	
Durchflussbegrenzer	• Prüfen Sie, dass der Durchflussbegrenzer die folgenden Gegendrücke erzeugt: FR-904..... 0,4 ± 0,05 MPa FR-902..... 0,2 ± 0,05 MPa Prüfen des Gegendrucks: 1 Lösen Sie die Anschlüsse des Durchflussbegrenzers. 2 Schließen Sie ein Stück Kapillare (ca. 1 m, Innendurchmesser 1,0 mm) an einen freien Port im Injektionsventil V2 an. Stellen Sie das Ventil manuell auf diesen Port ein. Hängen Sie das offene Ende in einen Abfallbehälter. 3 Lassen Sie die Pumpe bei 10 ml/min mit Wasser laufen. *Notieren Sie den Gegendruck (Bp1) am Pumpendisplay oder im Fenster Run Data.* 4 Schließen Sie den Durchflussbegrenzer an das offene Ende der Kapillare an (beachten Sie die Markierung IN). Setzen Sie den Durchflussbegrenzer in den Abfallbehälter. 5 Lassen Sie die Pumpe bei 10 ml/min mit Wasser laufen. *Notieren Sie den Gegendruck (Bp2) auf dem Pumpendisplay oder im Fenster Run Data.* 6 Berechnen Sie den Gegendruck (Bp2-Bp1) des Durchfluss-begrenzers. Wenn er nicht innerhalb der Grenzwerte liegt, wechseln Sie ihn aus oder wenden Sie sich an GE Healthcare.

Abstand	**Maßnahme**
Alle 3 Monate	
UV-900-Monitor	• Prüfen Sie die Zelle und die Glasfaseranschlüsse gemäß Kapitel 4 im *Monitor UV-900 User Manual*.
UPC-900-Monitor	• Prüfen Sie das Gerät entsprechend Kapitel 4 im *Monitor UPC-900 User Manual*.
Alle 6 Monate	
UV-900-Monitor	• Prüfen Sie das Gerät entsprechend Kapitel 4 im *Monitor UV-900 User Manual*.
UPC-900-Monitor	• Reinigen Sie die Durchflusszelle entsprechend Kapitel 4 im *Monitor UPC-900 User Manual*.
Mischer M-925	• Prüfen Sie, dass die Mischkammer sauber und nicht beschädigt ist. Prüfen Sie die Anschlüsse der Kapillaren. Ersetzen Sie sie gegebenenfalls.
Jährlich	
Ventil INV-907	• Überprüfen Sie das Ventil auf äußere und/oder innere Undichtigkeiten. Wechseln Sie die Verteilerplatte jährlich oder bei Bedarf. Siehe Kapitel 4 in den *Instructions* des Ventils.
Alle 2 Jahre	
Mischer M-925	• Wechseln Sie die komplette Mischkammer aus.

Abstand	**Maßnahme**
Bei Bedarf	
Pumpe P-900	• Wechseln Sie die Kolbendichtungen aus. Siehe Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual*. • Wechseln Sie den Kolben aus. Siehe Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual*. • Reinigen oder wechseln Sie die Einlass- oder Auslass-Sperrventile. Siehe Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual*. • Kalibrieren Sie den Drucksensor. Siehe Abschnitt 6.4 unter *„Kalibrierungsverfahren"*.
UPC-900-Monitor	• Reinigen Sie die Durchflusszelle entsprechend Kapitel 4 im *Monitor UPC-900 User Manual*. • Kalibrieren Sie den Temperatursensor beim Auswechseln der Leitfähigkeitszelle. Siehe Abschnitt 6.4 unter *„Kalibrierungsverfahren"*. • Geben Sie beim Auswechseln der Leitfähigkeitszelle eine neue Zellkonstante ein. Siehe Abschnitt 6.4 unter *„Kalibrierungsverfahren"*. • Kalibrieren Sie die Zellkonstante, wenn eine spezifische Leitfähigkeit mit hoher Genauigkeit gemessen wird. Siehe Abschnitt 6.4 unter *„Kalibrierungsverfahren"*.
In-line-Filter	• Wechseln Sie den In-Line-Filter aus.

6.2 Reinigen der Oberfläche des Systems

Die Oberfläche des Systems sollte trocken und sauber gehalten werden, um die Sicherheit und die Funktion des Systems aufrechtzuerhalten. Chemikalienflecken und Staub sollten entfernt werden.

Zum Reinigen der Oberfläche des Systems:

1 Wischen Sie die Oberfläche regelmäßig mit einem feuchten Tuch ab.

2 Um Flecken zu entfernen, sprühen Sie das System mit 20 %-igem Ethanol ein und wischen Sie die Reste weg.

Hinweis: *Achten Sie darauf, die Kapillaren nicht zu knicken.*

3 Lassen Sie das Gerät vor dem Betrieb vollständig trocknen.

6.3 Reinigen des Systemströmungsweges

Das nachstehende Verfahren beschreibt, wie Sie den Systemströmungsweg reinigen können.

Verwenden Sie eine Kapillarleitung, die mit Ihrem System mitgeliefert wurde, um die Säule zu umgehen. Wenn die Säule im Strömungsweg bleiben muss, achten Sie darauf, dass der zulässige Maximalstrom und -druck für die Säule nicht überschritten werden.

Für Verfahren zur Reinigung der Säule und Anweisungen zur Lagerung der Säule siehe mit der Säule gelieferte Anleitung.

6.3.1 Am Ende des Tages

Wenn das System am nächsten Tag mit denselben Pufferlösungen verwendet wird, lassen Sie das System isokratisch mit einer geringen Durchflussgeschwindigkeit laufen (ca. 0,02 ml/min).

Wenn das System am nächsten Tag mit anderen Pufferlösungen verwendet wird, spülen Sie die Pumpe und das System mit destilliertem Wasser mit den folgenden PumpWash-Anweisungen:

1 Tauchen Sie die Einlassleitungen in destilliertes Wasser.

2 Führen Sie die folgende Anweisung durch

ÄKTApurifier	**ÄKTApurifier UPC**
PumpWashPurifier	***PumpWashBasic***

6.3.2 Wenn das System ein paar Tage lang nicht verwendet wird

Führen Sie eine ***PumpWashPurifier/PumpWashBasic*** mit destilliertem Wasser durch. Wiederholen Sie das Verfahren mit bakteriostatischer Lösung, d. h. 20 %-igem Ethanol.

6.3.3 Monatliche Reinigung

Reinigen Sie das System jeden Monat oder wenn Probleme wie Störpeaks auftreten. Verwenden Sie dieses Verfahren auch zum Reinigen des Strömungsweges vor Instandhaltungs- oder Wartungsarbeiten.

1 Lösen Sie die Anschlüsse der Säule und ersetzen Sie sie durch Kapillaren zur Umgehung.

2 Wenn Sie eine ph-Elektrode verwenden, ersetzen Sie sie durch eine Dummy-Elektrode.

3 Tauchen Sie alle Einlassleitungen in 1 M NaOH.

4 Führen Sie manuell ***PumpWashPurifier/PumpWashBasic*** für beide Einlassleitungen aus.

5 Spülen Sie das gesamte System 20 Minuten lang mit 1 M NaOH (1 ml/min).

6 Wiederholen Sie sofort die Schritte 3 und 4 mit destilliertem Wasser, um das NaOH aus dem System zu spülen.

6.3.4 Vor-Ort-Reinigung

Nach wiederholten Trennzyklen kann sich kontaminierendes Material allmählich im System und auf der Säule ansammeln. Dieses Material wurde möglicherweise durch den oben beschriebenen Reinigungsschritt nicht entfernt. Die Art und der Grad der Kontamination hängen von der Probe und den angewandten Chromatographiebedingungen ab. Dies sollte bei der Gestaltung eines Reinigungsvorgangs berücksichtigt werden.

6.4 Kalibrierungsverfahren

Die nachfolgende Tabelle zeigt die Arten und die Häufigkeit der Kalibrierungen, die am ÄKTApurifier durchgeführt werden können. Für Beschreibungen zur Durchführung dieser Kalibrierungen siehe *UNICORN User Manuals* und die User Manuals und Instructions der einzelnen Komponenten.

Die Kalibrierung wird in UNICORN durch Auswahl von ***System:Calibrate*** in ***System Control*** durchgeführt.

Komponente	**Häufigkeit**
Leitfähigkeitszelle	
Zellkonstante	Nur erforderlich, wenn eine bestimmte Leitfähigkeit mit hoher Genauigkeit gemessen wird (Cond_Calib).
Temperatur	Muss beim Auswechseln der Leitfähigkeitszelle (Temp.) durchgeführt werden.
Eingeben einer neuen Zell-konstante	Muss beim Auswechseln der Leitfähigkeitszelle (Cond_Cell) durchgeführt werden.
Druckanzeige	Einmal im Jahr oder wenn erforderlich.
pH-Elektrode (optional)	Jeden Tag.

6.5 Transportieren des Systems

ÄKTApurifier: Zwei Personen sind nötig, um das System hochzuheben.

ÄKTApurifier UPC: Zwei Personen sind empfehlenswert, um das System hochzuheben.

VORSICHT! Heben Sie das System niemals an den Ventilen an.

Trennen Sie alle Kabel und Kapillaren, die an periphere Komponenten und Flüssigkeitsbehälter angeschlossen sind, ab, bevor Sie das System transportieren. Entfernen Sie alle Gegenstände, die auf dem System stehen.

ÄKTApurifier: Halten Sie das System fest, indem Sie die Finger in die Aussparung zwischen der Drehplattform und der Grundplatte der Haupteinheit legen, und heben Sie das System an.

7 Fehlerbehebung

7.1 Fehler und Maßnahmen

In diesem Abschnitt werden die Fehler aufgeführt, die bei bestimmten Monitorkurven und bestimmten Modulen beobachtet wurden. Die Fehler und Maßnahmen werden wie folgt aufgeführt:

Art	**Seite**
UV-Kurve	114
Druckkurve	115
Leitfähigkeitskurve	115
Pumpe P-900	117
UV-900-Monitor	118
UPC-900-Monitor	118
Mischer M-925	119
Ventil INV-907	119
BufferPrep	120

Wenn der Fehler durch die vorgeschlagenen Maßnahmen nicht behoben wird, wenden Sie sich an Ihren Vertreter von GE Healthcare vor Ort.

7.2 UV-Kurve

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Störpeaks	• Überprüfen Sie, dass sich keine Luft im Eluenten befindet. Entgasen Sie ihn gegebenenfalls. • Reinigen Sie das System entsprechend Kapitel 4. • Reinigen Sie die Säule gemäß den Anweisungen für die Säule. • Überprüfen Sie, dass der Mischer korrekt funktioniert und dass die korrekte Mischkammer verwendet wird.
Verrauschtes UV-Signal, Signalabweichung oder -instabilität	• Die Pufferlösung ist möglicherweise verschmutzt. Prüfen Sie, ob das Signal bei Wasser immer noch verrauscht ist. • Es befindet sich möglicherweise Luft in derUV-Durchflusszelle. Prüfen Sie, dass der Durchflussbegrenzer den folgenden Gegendruck erzeugt: FR-904 0,4 ± 0,05 MPa FR-902 0,2 ± 0,05 MPa Prüfen Sie den Gegendruck wie folgt: 1 Lösen Sie die Anschlüsse des Durchflussbegrenzers. 2 Schließen Sie ein Stück Kapillare (ca. 1 m, Innendurchmesser 1,0 mm) an einen freien Port im Injektionsventil V2 an. Stellen Sie das Ventil manuell auf diesen Port ein. Hängen Sie das offene Ende in den Abfallbehälter. 3 Lassen Sie die Pumpe manuell bei 10 ml/min mit Wasser laufen. Notieren Sie den Gegendruck (Bp1) am Pumpendisplay oder im Fenster ***Run Data***. 4 Schließen Sie den Durchflussbegrenzer an das offene Ende der Kapillare an (beachten Sie die Markierung **IN**). Setzen Sie den Durchflussbegrenzer in den Abfallbehälter. 5 Lassen Sie die Pumpe bei 10 ml/min mit Wasser laufen. Notieren Sie den Gegendruck (Bp2) am Pumpendisplay oder im Fenster ***Run Data***. 6 Berechnen Sie den Gegendruck (Bp2-Bp1) des Durchflussbegrenzers. Wenn er nicht innerhalb der Grenzwerte liegt, wechseln Sie ihn aus oder wenden Sie sich an GE Healthcare. • Entgasen Sie die Pufferlösung vor der Verwendung. • Reinigen Sie die UV-Durchflusszelle, siehe Kapitel 4 des *Monitor UPC-900 User Manual* oder *UV-900 User Manual*.

7.3 Druckkurve

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Unregelmäßiger Fluss, verrauschtes Basisliniensignal, unregelmäßige Druckverfolgung **Mögliche Gründe sind:**	
Luftbläschen in der Pumpe oder im Durchlauf	• Überprüfen Sie, dass sich genug Eluent in den Behältern befindet. • Überprüfen Sie alle Anschlüsse auf Undichtigkeiten. • Beachten Sie die Anweisungen in Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual*.
Einlass- oder Auslass-Sperrventile funktionieren nicht korrekt	• Reinigen Sie die Ventile entsprechend Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual*.
Kolbendichtung undicht	• Wechseln Sie die Kolbendichtungen entsprechend den Anweisungen im Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual* aus.
Blockierung oder Teilblockierung des Strömungswegs	• Spülen Sie den Strömungsweg zur Behebung der Blockierung durch. • Wechseln Sie die Kapillaren aus, wenn nötig. • Prüfen Sie den Filter in der Einlassleitung. Er kann verstopfen, wenn ungefilterte Pufferlösungen oder Proben eingebracht werden. • Siehe Anweisungen für Durchspülung am Ende des Laufs in Kapitel 3 im *Pump P-900 User Manual*.

7.4 Leitfähigkeitskurve

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Die Leitfähigkeitsmessung mit derselben Pufferlösung scheint sich im Lauf der Zeit zu verändern.	• Reinigen Sie die Durchflusszelle entsprechend *Monitor UPC-900 User Manual* oder *Monitor pH/C-900 User Manual*. • Vielleicht ist die Umgebungstemperatur gesunken. Verwenden Sie einen Temperaturausgleichsfaktor, siehe Reference information im *Monitor UPC-900 User Manual* oder *Monitor pH/C-900 User Manual*.
Störpeaks erscheinen im Gradientenprofil	• Eine belastete Probe wurde entdeckt (z. B. Protein). • Luftblasen strömen durch die Durchflusszelle. Prüfen Sie die Anschlüsse der Kapillaren. Verwenden Sie einen Durchfluss-begrenzer.

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Verschiebung der Basislinie oder verrauschtes Signal	• Es befindet sich möglicherweise Luft in der Durchflusszelle. • Prüfen Sie die Anschlüsse der Kapillaren auf Undichtigkeiten. • Prüfen Sie, ob die Säule ausreichend äquilibriert wurde. Reinigen Sie die Säule wenn erforderlich. • Überprüfen Sie die Funktion des Mischers und der Systempumpe. Die Funktion des Mischers wird geprüft, indem ein Rührstäbchen auf die Oberseite des Mischergehäuses gelegt wird. Das Rührstäbchen sollte sich drehen, wenn sich das System in Modus Run befindet. Die Funktionen der Pumpe und des Mischers können auch mittels Durchführung des Installationstests geprüft werden. • Reinigen Sie die Durchflusszelle entsprechend *Monitor UPC-900 User Manual*.
Wellen auf dem Gradienten	• Überprüfen Sie, dass die Pumpe und die Ventile korrekt funktionieren und korrekt programmiert sind. • Wechseln Sie gegebenenfalls zu einem größeren Mischvolumen. • Überprüfen Sie die Funktion des Mischers. Die Funktion des Mischers wird geprüft, indem ein Rührstäbchen auf die Oberseite des Mischergehäuses gelegt wird. Das Rührstäbchen sollte sich drehen, wenn sich das System in Modus Run befindet. Die Funktion des Mischers kann auch mittels Durchführung des Installationstests geprüft werden.
Nichtlineare Gradienten oder langsame Antwort auf Änderungen des %B	• Überprüfen Sie, dass die Kapillaren ordnungsgemäß gereinigt wurden und dass die Pumpe funktioniert. • Wenn ein größerer Mischer als die Standardkammer mit 0,6 ml verwendet wird, versuchen Sie, auf ein kleineres Mischvolumen umzusteigen.
Falsche oder instabile Messung	• Prüfen Sie, dass das Kabel der Leitfähigkeitsdurchflusszelle ordnungsgemäß an der Rückseite des Monitor angeschlossen ist. • Überprüfen Sie, ob die Pumpe korrekt funktioniert. • Wenn ein Temperaturausgleich verwendet wird, prüfen Sie, ob der Temperatursensor kalibriert ist und ob der korrekte Temperaturausgleichsfaktor verwendet wird. • Prüfen Sie, ob die Säule ausreichend äquilibriert wurde. Reinigen Sie die Säule, wenn erforderlich. • Überprüfen Sie die Funktion des Mischers. Die Funktion des Mischers wird geprüft, indem ein Rührstäbchen auf die Oberseite des Mischergehäuses gelegt wird. Das Rührstäbchen sollte sich drehen, wenn sich das System in Modus Run befindet. Die Funktion des Mischers kann auch mittels Durchführung des Installationstests geprüft werden.

7.5 Pumpe P-900

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Kein Text auf dem Frontdisplay	• Prüfen Sie, ob das Netzkabel angeschlossen und der Hauptschalter auf der Position-AN I steht.
Flüssigkeit sickert zwischen dem Pumpenkopf und der Seitenwand heraus.	• Die Kolbendichtung oder die Spülmembran ist nicht korrekt installiert oder ist abgenutzt. 1 Wechseln Sie die Dichtung oder die Membran aus oder bauen Sie sie erneut ein. 2 Lassen Sie sie vorsichtig einlaufen, siehe Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual*.
Geringer Eluentstrom und Geräusche, wenn sich der Kolben bewegt	• Bauen Sie den Pumpenzylinder auseinander und untersuchen Sie die Kolbenfeder entsprechend 4 im *Pump P-900 User Manual*. Wechseln Sie sie aus, wenn nötig. • Wenn die Feder korrodiert ist, prüfen Sie die Kolbendichtung und die Spülmembran. Stellen Sie sicher, dass die Kolben-hinterspülung immer verwendet wird, wenn mit wässrigen Pufferlösungen mit hoher Salzkonzentration gearbeitet wird. • Überprüfen Sie den Kolben auf Beschädigung. Falls der Kolben beschädigt ist, wechseln Sie ihn entsprechend Kapitel 4 im *Pump P-900 User Manual* aus. • Denken Sie daran, die Kolbendichtung durch neue Teile zu ersetzen.
Undichter Anschluss und/oder kristallisiertes Material rund um einen Anschluss	• Lösen Sie den Anschluss und prüfen Sie, ob er abgenutzt oder nicht korrekt angebracht wurde. In diesem Fall wechseln Sie den Anschluss aus. • Ziehen Sie den Anschluss ordnungsgemäß von Hand fest.

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Unregelmäßiger Pumpendruck	Um die Pumpenfunktion zu prüfen, protokollieren Sie den Druck oder prüfen Sie ihn in UNICORN. Durch Beobachten des Kolbenstatusindikators im Menü Check zusammen mit der Druckverfolgung kann der Pumpenzylinder, der nicht normal funktioniert, identifiziert werden, siehe Reference information im *Pump P-900 User Manual*. Unnormale Druckaufzeichnungen können mehrere Gründe haben, zum Beispiel: • in den Pumpenzylindern eingeschlossene Luft • teilweise blockierte Lösungsmittelfilter • undichte Anschlüsse • undichte Kolbendichtung • Funktionsstörung des Pumpensperrventils • beschädigter Kolben. Einige Beispiel für normale und unnormale Druckverfolgung zusammen mit Anmerkungen finden Sie in Kapitel 5 im *Pump P-900 User Manual*.

7.6 UV-900-Monitor

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Kein Text auf dem Frontdisplay	• Prüfen Sie, ob das Netzkabel angeschlossen und der Hauptschalter auf der Position-AN I steht.
Instabile UV-Basislinie	• Versuchen Sie, eine größere Mischkammer als die Standardmischkammer mit 0,6 ml zu verwenden.

7.7 UPC-900-Monitor

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Kein Text auf dem Frontdisplay	• Prüfen Sie, ob das Netzkabel angeschlossen und der Hauptschalter auf der Position-AN I steht.
Instabile UV-Basislinie	• Versuchen Sie, eine größere Mischkammer als die Standardmischkammer mit 0,6 ml zu verwenden.

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Der absolute Leitfähigkeitswert ist falsch	• Drehen Sie die Durchflusszelle, so dass das Ende mit den Schrauben zum Durchflussbegrenzer FR-902 zeigt. • Kalibrieren Sie die Leitfähigkeitszelle neu. • Kalibrierungslösung, 1,00 M NaCl, nicht korrekt bereitet. Bereiten Sie eine neue Kalibrierungslösung und kalibrieren Sie die Leitfähigkeits-zelle neu.
Instabile Leitfähigkeitskurve	• Versuchen Sie, eine größere Mischkammer als die Standardmischkammer mit 0,6 ml zu verwenden.

7.8 Mischer M-925

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Undichtigkeit	• Prüfen Sie die Anschlüsse der Kapillaren. Ziehen Sie sie erneut an oder wechseln Sie sie aus, wenn nötig. • Prüfen Sie die Mischkammer. Wechseln Sie sie aus, wenn Flüssigkeit durch die Wände und Dichtungen der Mischkammer gedrungen ist.
Funktionstest	• Prüfen Sie die Funktion des Mischers, indem Sie ein Rührstäbchen auf die Oberseite des Mischergehäuses legen. Das Rührstäbchen sollte sich drehen, wenn sich das System in Modus Run befindet. • Die Funktion des Mischers kann auch mittels Durchführung des Installationstests geprüft werden.

7.9 Ventil INV-907

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Das Ventil schaltet nicht um	• Überprüfen Sie Verbindungen zur Pumpe. Das Ventil sollte an der Buchse UniNet-2 angeschlossen sein. • Überprüfen Sie den ID-Schalter am Ventil. Die ID-Nummer sollte der in UNICORN eingestellten Nummer entsprechen. • Prüfen Sie das UniNet-Kabel und wechseln Sie es gegebenenfalls aus.
Das Ventil schaltet in die falsche Position	• Die Ventilteile wurden vielleicht nach dem Auswechseln falsch zusammengebaut. • Prüfen Sie, ob die Markierung 3 der Verteilerplatte horizontal liegt. Siehe entsprechende Instructions des Ventils.

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Undichtigkeit außen	• Prüfen Sie die Anschlüsse der Kapillaren. Ziehen Sie sie an oder wechseln Sie sie aus, wenn nötig.
Undichtigkeit innen	• Eine Undichtigkeit im Inneren kann am kleinen Loch an der Unterseite des Ventilkörpers erkannt werden. • Möglicherweise sind innen liegende Teile abgenutzt. Wechseln Sie die Kanalplatte und die Verteilerplatte aus. Siehe entsprechende Instructions des Ventils.
Hoher Gegendruck	• Führen Sie eine Vor-Ort-Reinigung durch. Siehe entsprechende Instructions des Ventils. • Wechseln Sie die Kanalplatte und die Verteilerplatte aus. Siehe entsprechende Instructions des Ventils.

7.10 BufferPrep

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Instabiler pH-Wert	• Prüfen Sie das System, indem Sie das Verfahren ohne Säule oder Probe durchführen. • Wenn der Wert immer noch instabil ist: Überprüfen Sie, ob die korrekte Mischkammer verwendet wird. Überprüfen Sie, ob die Pumpe korrekt funktioniert. Prüfen Sie, ob eine pH-Elektrode verschmutzt oder zerbrochen ist. Überprüfen Sie, ob die Ventile korrekt funktionieren. Überprüfen Sie, ob der pH-Wert nicht zu weit vom pKa der Pufferlösungskomponenten entfernt eingestellt ist. • Wenn der pH-Wert stabil ist, wenn ein Lauf ohne Säule oder Probe durchgeführt wird, prüfen Sie, ob die Konzentration der Pufferlösungskomponenten zu niedrig ist, was zu einer zu geringen Pufferungskapazität führt.

Fehlersymptom	Möglicher Grund/Maßnahme
Falscher pH-Wert	• Sammeln Sie etwas Eluent. Prüfen Sie die Kalibrierung der pH-Elektrode, indem Sie den pH-Wert des gesammelten Eluenten mit einem separaten pH-Monitor messen. • Wenn Sie Standardrezepte verwenden, verwenden Sie die folgende Mischung, um den pH-Wert separat zu messen. Mischen Sie mit einer 25 ml-Pipette 25 ml Pufferstammlösung, 25 ml der Säure und 50 ml Wasser. Prüfen Sie den pH-Wert mit einer bekannten pH-Elektrode hoher Qualität. Die Werte sollten ungefähr wie folgt lauten: 5,0–9,5 pH AIEX pH 6,5 6,0–9,0 pH AIEX pH 6,1 3,0–7,5 pH CIEX pH 3,7 Falls dies nicht der Fall ist, bereiten Sie neue Pufferlösungen. • Wenn der pH-Wert der Mischung korrekt ist: Prüfen Sie, ob eine pH-Elektrode verschmutzt oder zerbrochen ist. Überprüfen Sie, ob die Ventile korrekt funktionieren. • Wenn ein Nicht-Standardrezept verwendet wird: Überprüfen Sie, ob der pH-Wert nicht zu weit vom pKa der Pufferlösungskomponenten entfernt eingestellt ist. Prüfen Sie, ob die Konzentration der Pufferlösungskomponenten zu niedrig ist, was zu einer zu geringen Pufferungskapazität führt. • Überprüfen Sie, ob die korrekten pKa-Werte verwendet werden und ob alle pKa-Werte eingegeben wurden.
pH-Wert verschiebt sich	• Stellen Sie das Injektionsventil auf die Position WASTE. Pumpen Sie mindestens 30 ml Pufferlösung mit dem eingestellten pH-Wert durch, um den pH-Wert zu stabilisieren. Stellen Sie das Injektionsventil zurück auf die Position LOAD. Äquilibrieren Sie die Säule.

8 Referenzinformationen

8.1 Systembeschreibung

Hinweis: *Zwei Versionen sind erhältlich: ÄKTApurifier mit UV-900-Monitor für Mehrwellenlängen-Detektion und ÄKTApurifier UPC mit UPC-900-Monitor für eine kombinierte Messung von UV-Absorption, pH-Wert und Leitfähigkeit. Wenn die Anweisungen oder Spezifikationen für beide Modelle ähnlich sind, wird nur die Bezeichnung ÄKTApurifier verwendet.*

8.1.1 Überblick über die Systeme

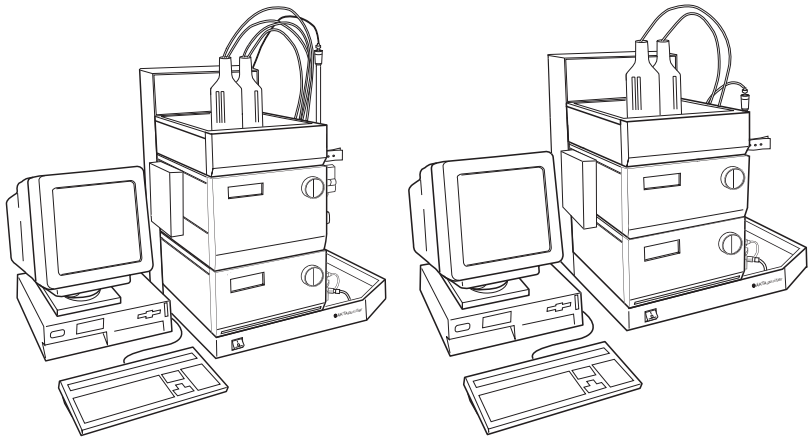


Abb. 8-1. ÄKTApurifier (links) und ÄKTApurifier UPC (rechts)

Der ÄKTApurifier besteht aus einer kompakten Trenneinheit und einem Computer mit UNICORN-Steuerung, Version 5.01 oder höher.

Die einzelnen Module und Komponenten werden in diesem Kapitel kurz beschrieben. Ausführliche Informationen zu den Komponenten finden Sie in den entsprechenden User Manuals und Instructions. Die UNICORN-Steuerung wird in der separaten, mitgelieferten UNICORN-Benutzerdokumentation beschrieben.

Die Kommunikation zwischen dem Computer und den verschiedenen Komponenten des ÄKTApurifier wird über Hochgeschwindigkeits-Datennetzwerkverbindungen erreicht (UniNet-1 und UniNet-2).

Alle Komponenten des ÄKTApurifier, die Flüssigkeiten führen, werden auf derselben Seite der Hauptkomponenten angebracht. Dies ermöglicht einen leichten Zugang zu allen Komponenten, Kapillaren und anderen Flüssigkeitskomponenten, die sich an der Pumpe P-900 und dem UV-900-Monitor/UPC-900-Monitor befinden.

8.1.2 Lage der Komponenten

Das nachstehende Bild zeigt die Lage der Komponenten der Trenneinheit.

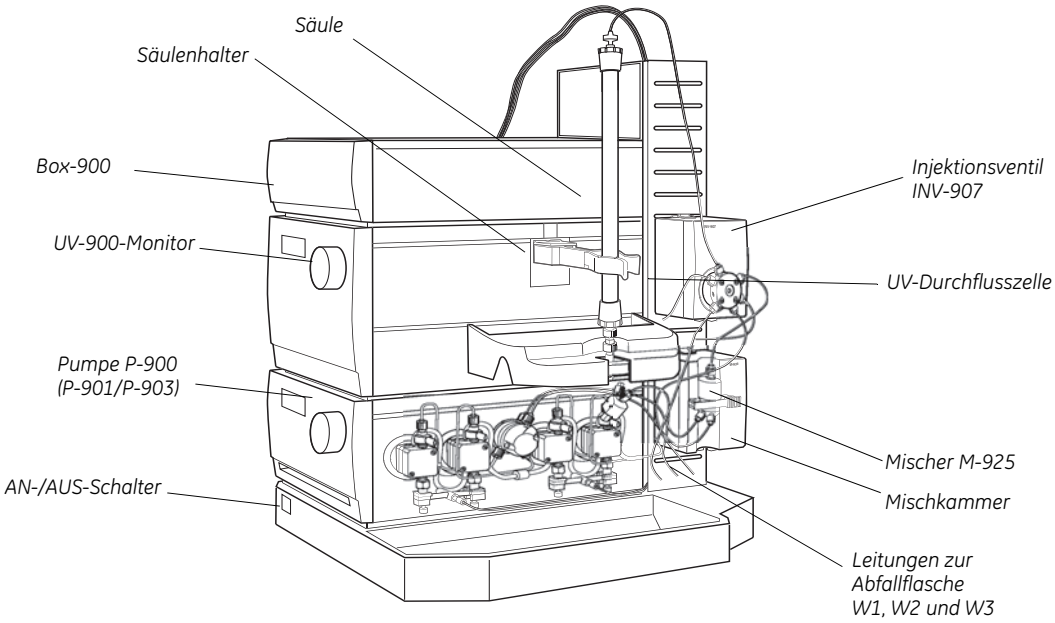


Abb. 8-2. Lage der Komponenten des ÄKTApurifier

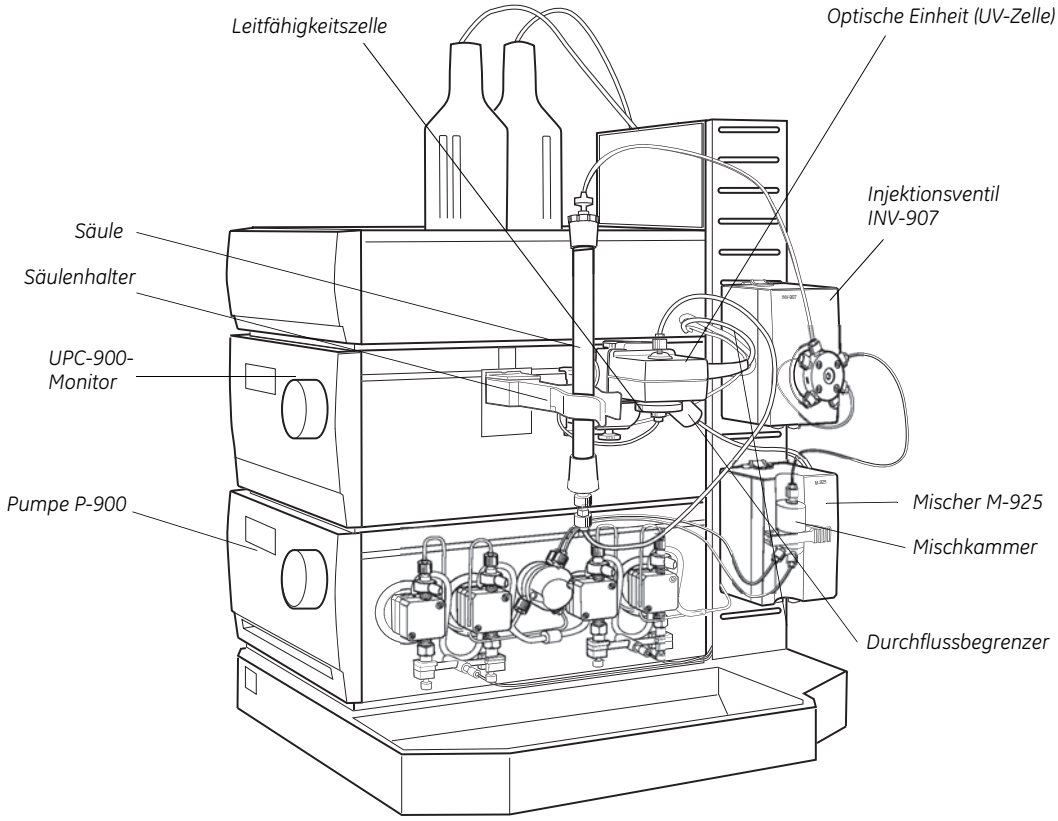
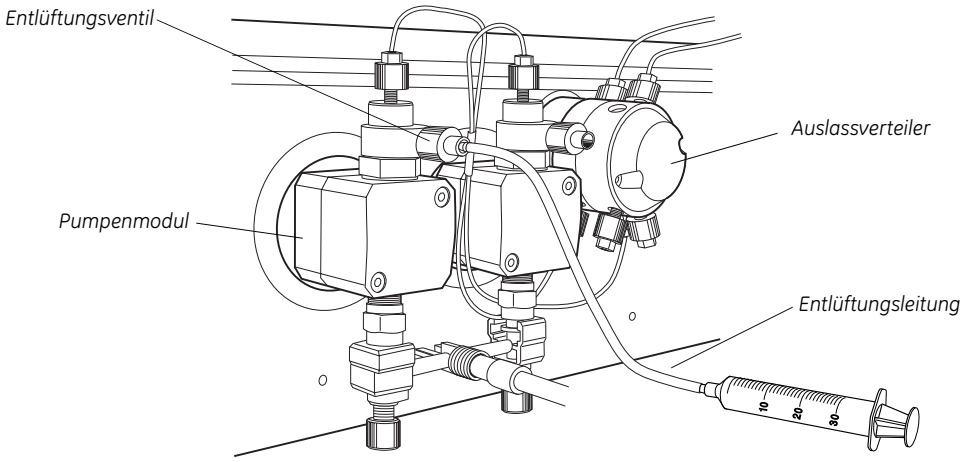


Abb. 8-3. Lage der Komponenten des ÄKTApurifier UPC

8.1.3 Entlüftungskomponenten

Das nachstehende Bild zeigt die Entlüftungskomponenten für die Pumpe P-900.



8.1.4 Elektrische Anschlüsse

WARNUNG! Versuchen Sie niemals, die Netzsicherung zu entfernen, wenn das System mit Netzspannung versorgt wird. Für den dauerhaften Schutz vor Brandgefahr ersetzen Sie Sicherungen nur durch solche der vorgegebenen Art und Leistung. Daten zu den Sicherungen siehe "*Technische Spezifikationen*".

Alle elektrischen Anschlüsse des ÄKTApurifier befinden sich an der Rückseite des Systems. Es ist nur ein einziger Netzanschluss für das gesamte System erforderlich. Die Netzspannung für die Komponenten im System und den Fraktionssammler wird ausgehend von der Rückseite des Systems verteilt.

UniNet-1

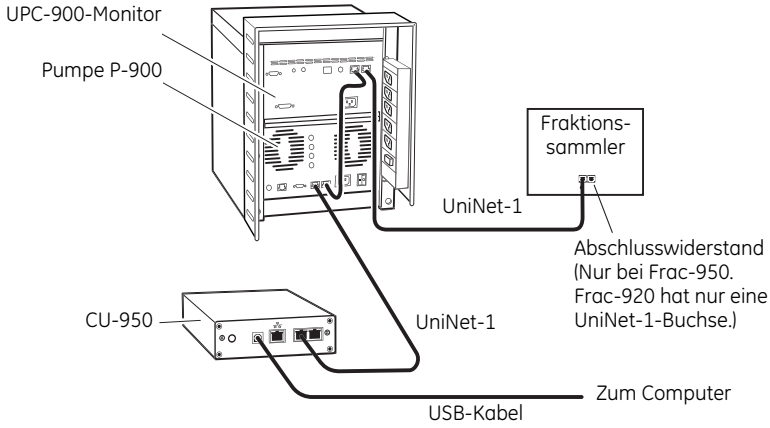
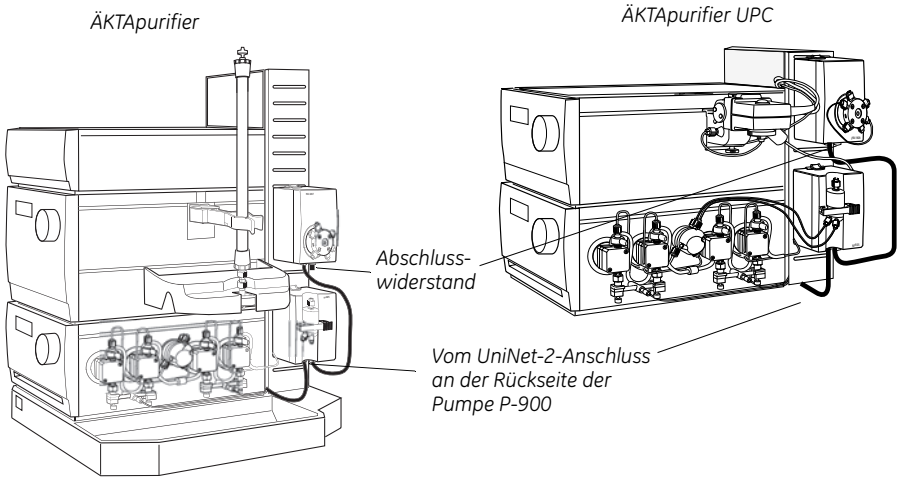


Abb. 8-4. UniNet-1-Anschlüsse am ÄKTApurifier UPC. Die Anschlüsse am ÄKTApurifier sind ähnlich.

Der Computer kommuniziert über ein USB-Kabel mit der Steuereinheit CU-950.

Das UniNet-1-Datenübertragungskabel läuft vom CU-950 zur Rückseite der Pumpe P-900. UniNet-1 endet am Monitor UPC-900/Monitor UV-900 mit einem Abschlusswiderstand oder, falls verwendet, am Fraktionssammler.

UniNet-2



Das UniNet-2-Datenübertragungskabel, das das Ventil und den Mischer mit Steuersignalen und Strom versorgt, geht von der Rückseite der Pumpe P-900 aus und verbindet die Komponenten an der rechten Seite des Systems. Das Kabel endet am Injektionsventil V1 mit einem Abschlusswiderstand.

Netzkabel

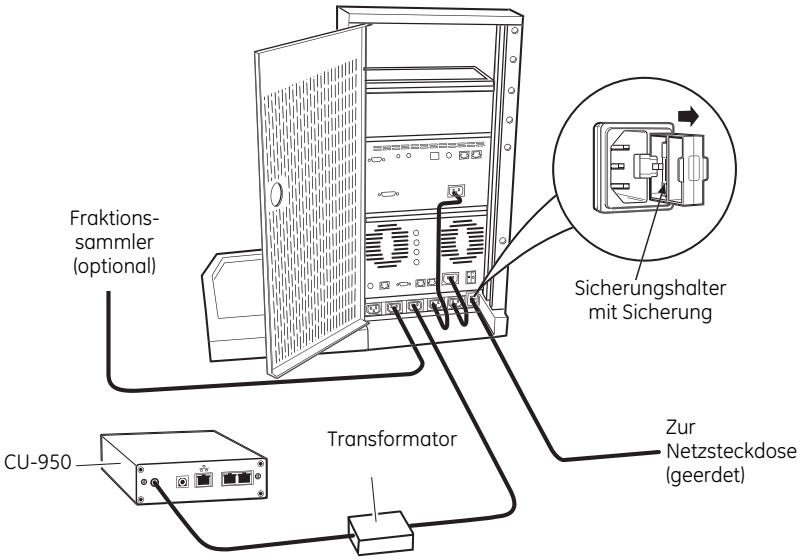


Abb. 8-5. Netzkabel im ÄKTApurifier-System. Die Netzkabel im System ÄKTApurifier-UPC laufen ähnlich.

WARNUNG! Versuchen Sie niemals, die Netzsicherung zu entfernen, wenn das System mit Netzspannung versorgt wird. Für den dauerhaften Schutz vor Brandgefahr ersetzen Sie Sicherungen nur durch solche der vorgegebenen Art und Leistung.

Daten zu den Sicherungen siehe Technische Spezifikationen.

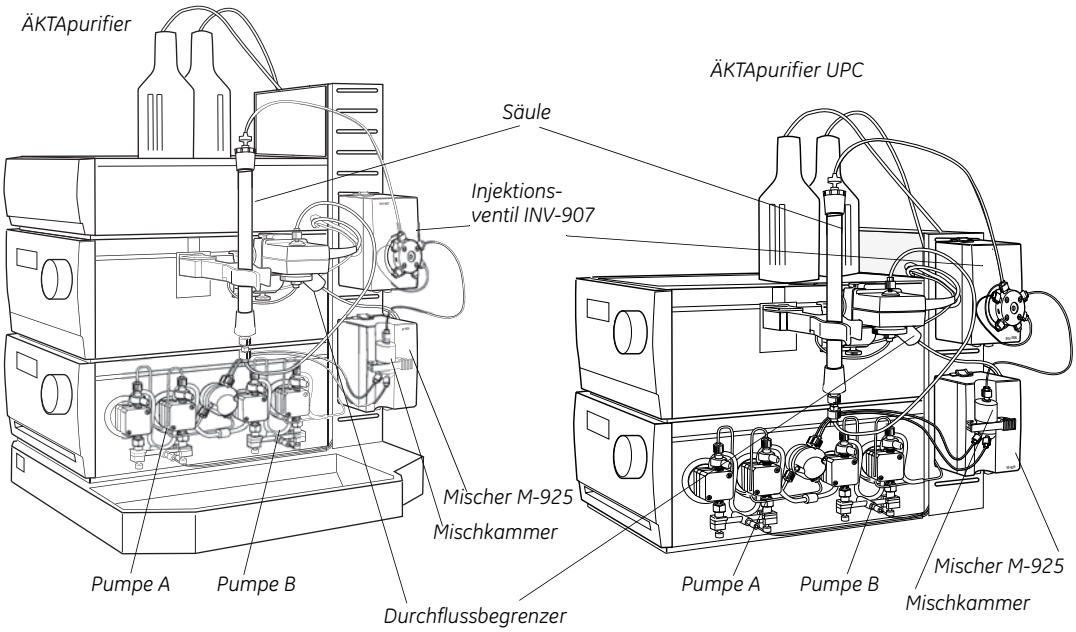
Es ist nur ein Netzanschluss erforderlich. Die Module, CU-950 und der Fraktionssammler (optional) sind mit der Stromversorgungsbuchse an der Rückseite des Systems verbunden.

WARNUNG! Verwenden Sie ausschließlich die von GE Healthcare gelieferten bzw. genehmigten Netzkabel.

Die Netzanschlusssicherung befindet sich rechts vom Netzanschluss. Um den Sicherungshalter zu öffnen, nachdem Sie zuerst die Stromversorgung zum System unterbrochen haben, verwenden Sie einen flachen Schraubendreher, um den Halter herauszuhebeln.

8.1.5 Strömungsweg

Das nachstehende Bild zeigt die Positionen der Komponenten und Kapillaren im ÄKTApurifier. Für ihre Positionen im Strömungsweg siehe Strömungsdiagramm.



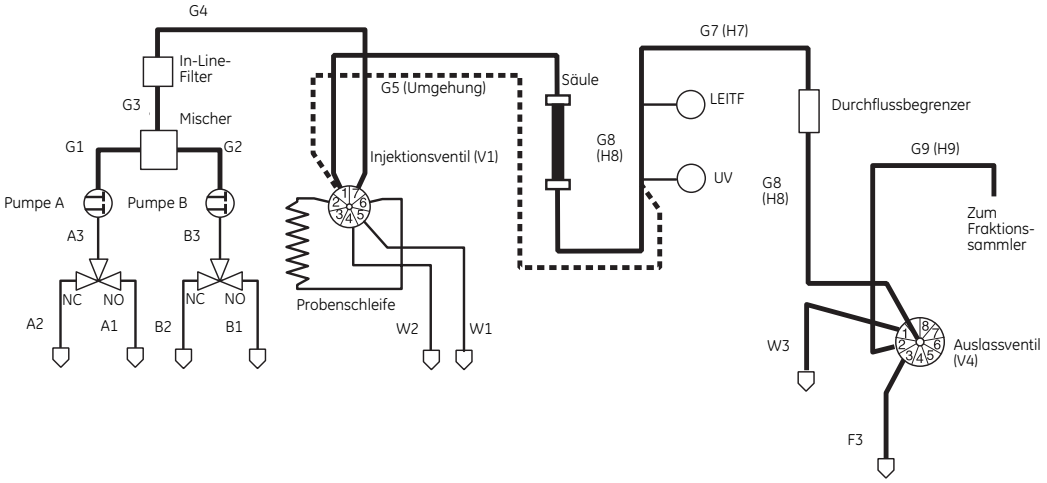


Abb. 8-6. Strömungsdiagramm ÄKTApurifier

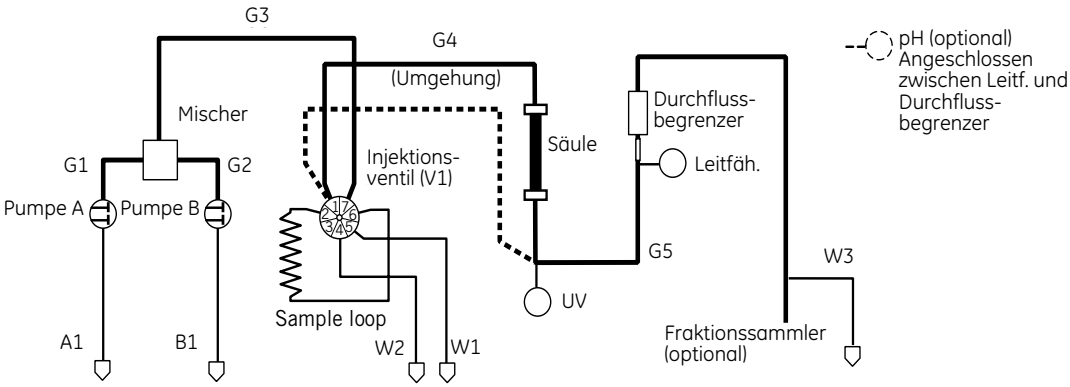


Abb. 8-7. Strömungsdiagramm ÄKTApurifier UPC

Die Kapillare G5 wird im Werk als Ersatz für die Säule installiert. Sie wird als Umgehung verwendet, wenn die Säule von der Trenneinheit entfernt wird, z. B. bei der Systemreinigung.

Bitte beachten Sie, dass für das System zwei Durchflussbegrenzer erhältlich sind.

- FR-902
  Im Werk installiert und auf einen Gegendruck von 0,2 MPa voreingestellt. Dieser Durchflussbegrenzer wird verwendet, wenn eine pH-Zelle (optional) im System eingebaut ist oder wenn eine Niederdrucksäule wie HiLoad oder HiTrap verwendet werden soll.

- FR-904
  Auf einen Gegendruck von 0,4 MPa voreingestellt. Dieser Durchfluss-begrenzer wird verwendet, wenn mit organischen Lösungsmitteln gearbeitet wird, wie zum Beispiel bei RPC-Anwendungen, um die Bildung von Luftblasen in der Durchflusszelle zu verhindern.

Die nachstehende Tabelle zeigt die Abmessungen der Kapillaren, die im Werk eingebaut wurden, und ihre Lage im System.

ÄKTApurifier 10

Die nachstehende Tabelle zeigt die Kapillaren, die für ÄKTApurifier 10 erhältlich sind, und ihre Lage im System. Bei Lieferung ist eine PEEK-Kapillare mit einem Innendurchmesser von 0,5 mm von der Pumpe zur UV-Zelle installiert und eine Tefzel™-Kapillare mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm ist vom Auslass der UV-Zelle bis zum Fraktionssammler (wenn zutreffend) installiert. Die Säule wird entweder unter Verwendung der mit der Säule mitgelieferten Kapillaren oder mit Stücken von PEEK-Kapillare mit 0,25 mm installiert, die vom Benutzer auf die geeignete Länge geschnitten wurden (PEEK-Kapillare mit 0,25 mm, blau, wird mit dem System ÄKTApurifier 10 geliefert).

Kapillare	**Länge**	**Innen-durchmesser der Kapillare**	**Außen-durch-messer der Kapillare**	**Material**	**Farbe**	**10 cm-Volumen**
INV-907-Säule		0,25 mm	1/16"	PEEK	blau	4,9 µl
G5	40 cm	0,50 mm	1/16"	PEEK	orange	19,6 µl
UV-Frak		0,25 mm	1/16"	PEEK	blau	4,9 µl
G1	33 cm	0,50 mm	1/16"	PEEK	orange	19,6 µl
G2	33 cm	0,50 mm	1/16"	PEEK	orange	19,6 µl
G3	20 cm	0,50 mm	1/16"	PEEK	orange	19,6 µl
G4	18 cm	0,50 mm	1/16"	PEEK	orange	19,6 µl
H6	16 cm	0,50 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	19,6 µl
H7	8 cm	0,50 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	19,6 µl
H8	14 cm	0,50 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	19,6 µl
H9	60 cm	0,50 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	19,6 µl
W1-W3	100 cm	0,75 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	44,2 µl
A1, B2	170 cm	1,6 mm	1/8"	Teflon	durchsichtig	201,1 µl
A2	190 cm	1,6 mm	1/8"	Teflon	durchsichtig	201,1 µl
B1	150 cm	1,6 mm	1/8"	Teflon	durchsichtig	201,1 µl
A3, B3	15 cm	1,6 mm	1/8"	Teflon	durchsichtig	201,1 µl

ÄKTApurifier 100
Im ÄKTApurifier 100 ist eine PEEK-Kapillare (grün) mit einem Innendurchmesser von 0,75 mm von der Pumpe P-901 zum Auslass eingebaut. Die nachstehende Tabelle zeigt die Kapillaren, die für ÄKTApurifier 100 erhältlich sind, und ihre Lage im System.

Kapillare	Länge	Innen-durchmesser der Kapillare	Außen-durch-messer der Kapillare	Material	Farbe	10 cm-Volumen
G1, G2	33 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G3	9 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G4	16 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G5	30 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G6 (H6)	16 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G7 (H7)	8 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G8 (H8)	14 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G9 (H9)	60 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
W1-W3	100 cm	0,75 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	44,2 µl
W1-W3	100 cm	1,00 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	78,5 µl
A1, B2	170 cm	2,9 mm	3/16"	Teflon	durchsichtig	660 µl
A2	190 cm	2,9 mm	3/16"	Teflon	durchsichtig	660 µl
B1	150 cm	2,9 mm	3/16"	Teflon	durchsichtig	660 µl
A3, B3	15 cm	2,9 mm	3/16"	Teflon	durchsichtig	660 µl

Austauschen der Kapillarensätze – ÄKTApurifier 10
Zwei verschiedene Kapillareensätze mit unterschiedlichen Innendurchmessern sind für die Verwendung vom Injektionsventil zum Auslassventil (oder gegebenenfalls zum Fraktionssammler) im ÄKTApurifier 10 erhältlich:

- Kapillarensatz 0,25 (G6–G9). PEEK-Kapillare, blau, markiert mit G. Bei Lieferung im Werk installiert. Für die meisten Säulen verwendet.

- Kapillarensatz 0,50 (H6–H9). Tefzel-Kapillare, durchsichtig, markiert mit H. Für Niederdrucksäulen, bei hohen Durchflussgeschwindigkeiten.

Kapillarensatz 0,25 und Kapillarensatz 0,50
Das System wird mit eingebautem Kapillarensatz 0,25 geliefert. Der Kapillarensatz 0,50 sollte installiert werden, wenn Säulen mit niedrigem Höchstdruck bei hohen Durchflussgeschwindigkeit verwendet werden.

Wenn Sie vom/zum Kapillarensatz 0,25 zum/vom Kapillarensatz 0,50 wechseln, tauschen Sie die für G6-G9 bestimmten Kapillaren mit H6-H9. Für ihre Position im Strömungsweg siehe Strömungsdiagramm im Abschnitt *8.1.5*.

Kapillare[1]	Länge (mm)	Innen-durch-messer (mm)	Lage
G1	330	0,50	Pumpe P-900A (innen) zum Mischer
G2	330	0,50	Pumpe P-900B (außen) zum Mischer
G3	200	0,50	Mischer zum In-Line-Filter
G4	180	0,50	In-line-Filter zum Injektionsventil Pos. 7
G5	400	0,50	Umgehung: Injektionsventil (Pos. 1) zur UV-Zelle
Kapillarensatz 0,25 mm			
G6	160	0,25	UV-Zelle zur Leitfähigkeitszelle
G7	80	0,25	Leitfähigkeitszelle zum Durchfluss-begrenzer
G8	140	0,25	Durchflussbegrenzer zum Auslass-ventil (mittlerer Port)
G9	600	0,25	Auslassventil (Port 2) zum Fraktions-sammler (optional)
F3	1000	0,50	Auslassventil (Port 3)
A3	150	1,6	SV-903A (IN) zur Pumpe P-900A
B3	150	1,6	SV-903B (IN) zur Pumpe P-900B
A1	1700	1,6	Pufferlösungsgefäß A1 zu SV-903A (NO)
A2	1900	1,6	Pufferlösungsgefäß A2 zu SV-903A (NC)
B1	1500	1,6	Pufferlösungsgefäß B1 zu SV-903B (NO)
B2	1700	1,6	Pufferlösungsgefäß B2 zu SV-903B (NC)
W1	1000	0,75	Injektionsventil (Port 4) zum Abfall
W2	1000	0,75	Injektionsventil (Port 5) zum Abfall
W3	1000	0,75	Auslassventil (Port 1) zum Abfall
Kapillarensatz 0,50 mm			
H6	160	0,50	UV-Zelle zur Leitfähigkeitszelle
H7	80	0,50	Leitfähigkeitszelle zum Durchfluss-begrenzer
H8	140	0,50	Durchflussbegrenzer zum Auslass-ventil (mittlerer Port)
H9	600	0,50	Auslassventil (Port 2) zum Fraktions-sammler (optional)

1. G = Allgemeine Kapillare, H = Kapillare für großen Durchsatz, W = Abfallkapillare, A = Einlassleitung A, B = Einlassleitung B, F = Fraktionskapillare.

ÄKTApurifier UPC 10

Die Säule wird entweder unter Verwendung der mit der Säule mitgelieferten Kapillaren oder mit Stücken von PEEK-Kapillare, die vom Benutzer auf die geeignete Länge geschnitten wurden, installiert (PEEK-Kapillare mit einem Innendurchmesser von 0,5 mm, orange, wird mit dem System ÄKTApurifier UPC 10 geliefert). Ein Anschlussstück mit Außengewinde/Außengewinde verbindet die Leitfähigkeitszelle mit dem Durchflussbegrenzer.

Kapillare	Länge	Innen-durch-messer der Kapillare	Außen-durch-messer der Kapillare	Material	Farbe	10 cm-Volumen
A1, B1	170 cm	1,6 mm	1/8"	Teflon	durchsichtig	201,1 µl
G1, G2	33 cm	0,50 mm	1/16"	PEEK	orange	19,6 µl
G3	25 cm	0,50 mm	1/16"	PEEK	orange	19,6 µl
G4	30 cm	0,25 mm	1/16"	PEEK	blau	4,9 µl
G5	17 cm	0,25 mm	1/16"	PEEK	blau	4,9 µl
W1–W3	100 cm	0,75 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	44,2 µl

ÄKTApurifier UPC 100

Die Säule wird entweder unter Verwendung der mit der Säule mitgelieferten Kapillaren oder mit Stücken von PEEK-Kapillaren, die vom Benutzer auf die geeignete Länge geschnitten wurden, installiert (PEEK-Kapillare mit einem Innendurchmesser von 0,75 mm, grün, wird mit dem System ÄKTApurifier UPC 100 geliefert). Ein Anschlussstück mit Außengewinde/Außengewinde verbindet die Leitfähigkeitszelle mit dem Durchflussbegrenzer.

Kapillare	Länge	Innen-durch-messer der Kapillare	Außen-durch-messer der Kapillare	Material	Farbe	10 cm-Volumen
A1, B1	170 cm	2,9 mm	1/16"	Teflon	durchsichtig	660 µl
G1, G2	33 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G3	25 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G4	30 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
G5	17 cm	0,75 mm	1/16"	PEEK	Grün	44,2 µl
W1–W3	100 cm	0,75 mm	1/16"	Tefzel	durchsichtig	44,2 µl

8.1.6 Einstellen des Delay-Volumens

Das Delay-Volumen ist das gesamte Volumen der Kapillare und Komponenten zwischen der UV-Zelle und dem Auslass des Fraktionssammlers. Dieses Volumen wird in UNICORN verwendet, um die UV-Peak-Erkennung mit dem Fraktionssammler zu synchronisieren.

Hinweis: *Das Delay-Volumen wird nicht bei der Auslieferung des Systems eingestellt, da es von der Länge der Auslasskapillare abhängt. Wenn die Installation beendet ist, sollte das Delay-Volumen berechnet und dann in UNICORN eingestellt werden.*

Wenn die Systemkonfiguration nach der UV-Zelle geändert wurde, zum Beispiel durch Austausch einer Komponente oder einer Kapillare, kann sich auch das Delay-Volumen ändern. Das neue Delay-Volumen muss dann berechnet und in UNICORN eingestellt werden.

Berechnen des Delay-Volumens

Berechnen Sie den Beitrag jeder Komponente und jeder Kapillare von der UV-Zelle bis zum Auslass des Fraktionssammlers.

In der nachstehenden Tabelle sind die theoretischen Volumina einer Reihe von Komponenten und Kapillaren aufgelistet.

Komponente/Kapillare	**Volumen (µl)**
Ventil PV-908	7
Ventil IV-908	27
Ventil FV-903	113
Leitfähigkeitszelle	24
pH-Durchflusszelle	100
Akkumulator (Frac-950)	40
Anschlussstück 1/16" Außengewinde/1/16" Außengewinde (0,25 mm Innendurchmesser)	1,8
Anschlussstück 1/16" Außengewinde/1/16" Außengewinde (0,5 mm Innendurchmesser)	7
Durchflussbegrenzer FR-902	5
Kapillare Innendurchmesser 0,25 x 100 mm	4,9
Kapillare Innendurchmesser 0,50 x 100 mm	19,6
Kapillare Innendurchmesser 0,75 x 100 mm	44,2
Kapillare Innendurchmesser 1,0 x 100 mm	78,5

Beispiel:

Dieses Beispiel zeigt, wie das Delay-Volumen im ÄKTApurifier UPC 10 einschließlich Fraktionssammler Frac-920 auf der Grundlage der Kapillarlängen auf der vorhergehenden Seite und der Werte in der obenstehenden Tabelle berechnet wird. Die Kapillarlänge vom Durchflussbegrenzer zum Auslass am Abgabearm wird mit 1000 mm angenommen.

Das Kapillarvolumen wird entsprechend dem folgenden Beispiel berechnet: Eine 300 mm lange Kapillare mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm hat das Volumen 3 × 4,9 = 14,7 µl.

Berechnung des Delay-Volumens:

Komponente/Kapillare	Länge [mm]	Volumen (µl)
Kapillare, UV-Zelle – Leitfähigkeitszelle (Innendurchmesser 0,25 mm)	170	1,7 × 4,9 = 8,3
Leitfähigkeitszelle	–	24,0
Anschlussstück 1/16" Außengewinde/ 1/16" Außengewinde (0,25 mm Innendurchmesser)	–	1,8
Durchflussbegrenzer FR-902	–	5,0
Kapillare, FR-902 – Fraktionsventil am Frac-920 (Innendurchmesser 0,25 mm)	700	7 × 4,9 = 41,0
Fraktionsventil FV-903	–	113
Kapillare, FR-903 – Abgabearm am Frac-920 (Innendurchmesser 0,25 mm)	300	3 × 4,9 = 14,7
Delay-Volumen		**207,8**

Einstellen des Delay-Volumens in UNICORN
Zum Ändern des Delay-Volumens in UNICORN:

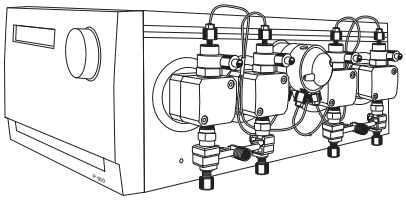
1 Wählen Sie ***System:Settings*** in ***System Control***.

2 Wählen Sie ***Specials*** und dann ***FracParameters***.

3 Geben Sie das Delay-Volumen ein und klicken Sie auf ***OK***.

8.2 Komponentenbeschreibung

8.2.1 Pumpe P-900

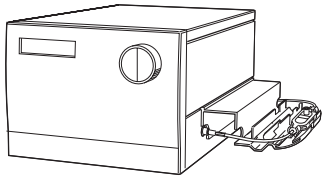


Pumpe P-900 ist die Sammelbezeichnung für eine Pumpenfamilie. P-900 ist eine Hochleistunglaborpumpe zur Anwendung überall dort, wo ein genau gesteuerter Flüssigkeitsstrom erforderlich ist. Es handelt sich um eine Pumpe mit geringer Pulsation, die mit zwei Pumpenmodulen ausgestattet ist, A und B. Dies ermöglicht binäre Gradienten mit Hochdruckmischung. Am Pumpenmodul A ist ein Drucksensor angeschlossen (linkes Paar Pumpenköpfe).

Das Modell, das im ***ÄKTApurifier 100 eingebaut ist, hat 100 ml-Pumpenköpfe*** und wird in der Liste der Zubehörteile als Pumpe P-901 bezeichnet. P-901 hat einen Betriebsbereich der Durchflussgeschwindigkeit von 0,01–100 ml/min sowohl im isokratischen als auch im Gradientenmodus und einen ***Druckbereich von 0–10 MPa*** (100 bar, 1450 psi).

Das Modell, das im ***ÄKTApurifier 10 eingebaut ist, hat mit 10 ml-Pumpenköpfe*** und wird in der Liste der Zubehörteile als Pumpe P-903 bezeichnet. P-903 hat einen Betriebsbereich der Durchflussgeschwindigkeit von 0,001–10 ml/min sowohl im isokratischen als auch im Gradientenmodus und einen ***Druckbereich von 0–25 MPa*** (250 bar, 3625 psi).

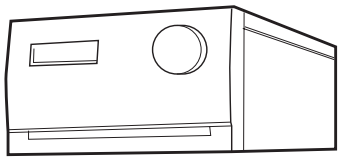
8.2.2 UV-900-Monitor



Der UV-900-Monitor ist ein Mehrwellenlängen-UV-Vis-Monitor, der die hochentwickelte Technik der Glasfaseroptik verwendet, um bis zu drei Wellenlängen gleichzeitig im Bereich 190–700 nm mit hoher Empfindlichkeit zu überwachen. Die Verwendung der Glasfaseroptik zusammen mit einer einzigartigen Gestaltung der Durchflusszelle gewährleistet ein hohes Signal-Rausch-Verhältnis mit minimalen Drift- und Brechungsindexeffekten.

Der UV-900-Monitor besteht aus einer Haupteinheit, Glasfasern und einer Auswahl aus zwei Durchflusszellen.

8.2.3 UPC-900-Monitor

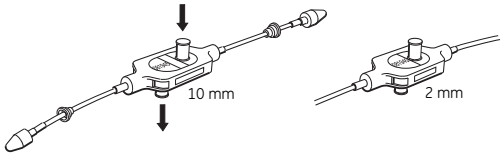


Der UPC-900-Monitor ist ein kombinierter Hochpräzisions-Online-Monitor zur Messung der UV-Absorption, des pH-Werts und der Leitfähigkeit in der Flüssigkeitschromatographie. Der UPC-900 bietet feste Wellenlängen von 214 (Zn -Lampe) 254 oder 280 nm (Hg-Lampe), schnelle Antwort, hohe Genauigkeit und Reproduzierbarkeit und Durchflusszellen mit geringem Totvolumen. Weitere Wellenlängen können unter Verwendung optischer Filter (Zubehör) gemessen werden.

Der UPC-900-Monitor besteht aus einer Steuereinheit, einer optischen Einheit mit Lampeneinheit und einer Auswahl von zwei Durchflusszellen (Länge des Strahlengangs 2 mm oder 5 mm), einer Leitfähigkeitsdurchflusszelle mit integriertem Temperatursensor und einer pH-Durchflusszelle mit pH-Elektrode (optional).

8.2.4 UV- und Leitfähigkeitsdurchflusszellen

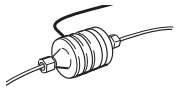
Die Art der verwendeten UV-Durchflusszelle hängt von der aufgebrachten Probenmenge und der Größe der Säule ab.



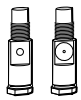
ÄKTApurifier 10 wird mit einer eingebauten Zelle der Größe 10 mm geliefert. Eine Zelle der Größe 2 mm (Strahlengang 2 mm, Innenvolumen 2 µl) ist als Zubehör erhältlich. Wenn aufgrund der Begrenzung des Ausgabesignals eine niedrigere Nachweisempfindlichkeit gewünscht wird, sollte die Durchflusszelle der Größe 2 mm verwendet werden.

ÄKTApurifier 100 wird mit einer eingebauten Zelle der Größe 2 mm geliefert. Eine Zelle der Größe 10 mm (Strahlengang 10 mm, Innenvolumen 8 µl) ist als Zubehör erhältlich. Für eine höhere Nachweisempfindlichkeit sollte die Durchflusszelle der Größe 10 mm verwendet werden.

ÄKTApurifier UPC wird mit einer eingebauten Zelle der Größe 2 mm geliefert. Eine Zelle der Größe 5 mm ist ebenfalls im Lieferumfang enthalten. Wenn aufgrund der Begrenzung des Ausgabesignals eine niedrigere Nachweisempfindlichkeit gewünscht wird, sollte die Zelle der Größe 2 mm verwendet werden.

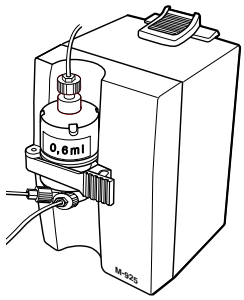


Leitfähigkeitszelle mit im Durchfluss integriertem Temperatursensor



UV-Durchflusszellen mit 2 und 5 mm Lichtweg

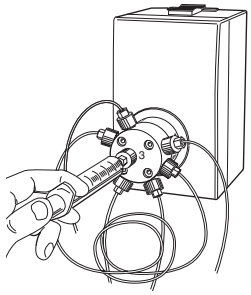
8.2.5 Mischer M-925



Der Mischer M-925 ist ein dynamischer Einkammermischer, der von der Pumpe P-900 mit Strom versorgt und gesteuert wird. Alle Eluenten, die gewöhnlich bei der Ionenaustausch, hydrophoben Interaktions-, Affinitäts- und Reversed-Phase-Chromatographie verwendet werden, können mit hoher Genauigkeit und Reproduzierbarkeit gemischt werden. Der Mischer wird direkt nach der Pumpe P-900 positioniert.

Der Mischer M-925 wird mit einer Mischkammer der Größe 0,6 ml geliefert, die gegen größere Kammern ausgetauscht werden kann. Mischkammern der Größe 2, 5 and 12 ml sind als Optionen erhältlich, um eine optimale Vermischung über den gesamten Durchflussgeschwindigkeitsbereich des ÄKTApurifier zu erreichen.

8.2.6 Ventil INV-907



Ein Motorventil mit sieben Ports wird als Probeninjektionsventil verwendet.

Es hat drei verschiedene Betriebspositionen zum:

- Laden einer Probenschleife bei gleichzeitiger Äquilibrierung der Säule (Stellung „Load“).
- Reinigen der Probenschleife, während die Säule in Betrieb ist (Stellung „Inject“).
- Reinigen der Pumpe für schnellen Eluentenwechsel ohne Stören der Säule (Stellung „Wash“).

Probenvolumina bis zu 150 ml können über Probenschleifen aufgebracht werden, die am Injektionsventil angeschlossen werden:

- unter Verwendung einer Auswahl von Probenschleifen mit festem Volumen für die Aufbringung von Proben von 10 µl bis 2 ml mit höchster Genauigkeit und Präzision.
- unter Verwendung von Superloop 10 ml, Superloop 50 ml oder Superloop 150 ml für die Aufbringung von Proben im Bereich 1-10 ml, 1-50 ml bzw. 1-150 ml. Alle drei werden üblicherweise mit einer Spritze beladen.

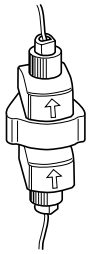
8.2.7 Durchflussbegrenzer FR-902/904

Der Durchflussbegrenzer erzeugt einen konstanten Gegendruck, um zu verhindern, dass sich Luftblasen in den Durchflusszellen bilden.

FR-902 wird im Werk auf 0,2 MPa eingestellt und wird verwendet, wenn eine pH-Zelle (optional) im System eingebaut ist oder wenn Niederdrucksäulen verwendet werden. FR-902 ist bei Lieferung im System eingebaut.

FR-904 wird im Werk auf 0,4 MPa eingestellt. Dieser Durchflussbegrenzer wird verwendet, wenn mit organischen Lösungsmitteln gearbeitet wird, wie zum Beispiel bei RPC-Anwendungen, um die Bildung von Luftblasen in der Durchflusszelle zu verhindern.

8.2.8 In-line-Filter

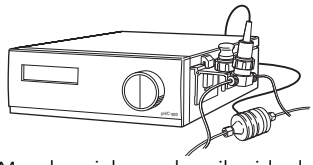


Der In-Line-Filter wird zwischen dem Auslass des Mischers M-925 und Position 7 des Injektionsventils eingebaut. Pfeile auf dem In-Line-Filter geben die Strömungsrichtung an. Er erzeugt einen Gegendruck von max. 0,5 MPa.

Der Filter ist ein Tiefenfilter mit einer Porenweite von 2 µm. Der im System ÄKTApurifier 10 verwendete Filter ist aus Titan hergestellt. Im System ÄKTApurifier 100 ist er aus Polypropylen hergestellt.

Der Filter sollte wöchentlich überprüft werden. Verwenden Sie zum Auswechseln des Filters gegebenenfalls ein Werkzeug, um das Filtergehäuse zu lösen. Ziehen Sie den Filter beim Einbauen des In-Line-Filters nur von Hand an. Verwenden Sie dazu niemals ein Werkzeug.

8.2.9 Monitor pH/C-900 (optional)



Der Monitor pH/C-900 ist eine Option für den ÄKTApurifier. Dies ist ein kombinierter Monitor für genaue In-Line-Überwachung des pH-Werts, der Leitfähigkeit und der Temperatur für viele Anwendungen in der Flüssigkeitschromatographie. Seine hohe Präzision über einen großen Messbereich machen ihn ideal für die Anwendung bei allen Chromatographietechniken, von der Reversed-Phase-Chromatographie und Eluenten mit sehr niedriger Leitfähigkeit bis zur hydrophoben Interaktionschromatographie und Lösungen mit hohem Salzgehalt.

8.2.10 Fraktionssammler (optional)

Ein Fraktionssammler, der Frac-920 oder Frac-950, kann sowohl für Reinigungen im kleinen Maßstab als auch im präparativen Maßstab mit dem ÄKTApurifier verwendet werden. Eine Reihe von Ständern für verschiedene Röhrchengrößen werden zusammen mit dem Fraktionssammler geliefert.

Im ÄKTApurifier ermöglicht der Fraktionssammler die Fraktionierung mit festgelegtem Volumen oder die automatische Peak-Fraktionierung. Die letztgenannte Funktion basiert auf der UV-Peak-Erkennung mit Abtastung der Steigung oder der Höhe. Fraktionsmarkierungen und Fraktionsnummern erleichtern die Identifikation von Fraktionen und Peaks.

8.3 Optionale Konfigurationen

Die Standardsystemkonfiguration des ÄKTApurifier kann einfach in optionale Konfigurationen umgeändert werden. Diese eingebaute Flexibilität im Standardsystem des ÄKTApurifier erlaubt es dem Benutzer, bereits verwendete Reinigungsmethoden zu verbessern und auch neue, komplexere Methoden zu entwickeln.

Optionale Konfigurationen werden vom Benutzer ausgewählt, installiert und implementiert. Eine optionale Konfiguration besteht sowohl aus Hardware-Komponenten als auch aus Software-Anweisungen.

Zur Unterstützung des Vorgangs der Implementierung optionaler Konfigurationen finden Sie allgemeine Richtlinien zur Installation und zum Betrieb im separaten Handbuch ÄKTApurifier Optional Configurations User Manual, das in der ÄKTApurifier Manual Box enthalten ist.

Optionale Konfigurationen werden über Methoden vom UNICORN-Steuersystem auf dieselbe Weise überwacht und gesteuert wie die Standardkonfiguration des ÄKTApurifier.

Optionale Konfigurationen, die vom ÄKTApurifier unterstützt werden, sind:

- Anschluss von bis zu 9 Multiport-Motorventilen. Diese Ventile können verwendet werden, um die folgenden Funktionen zu erfüllen:
- Auswahl der Pufferlösung.
- Probenauswahl.
- Auswahl der Säule.
- Optionale Funktionen.
- In-Line-pH-Messung.
- Anschluss einer separaten Probenpumpe.
- Probenaufgabe mit einem Superloop.
- Anschluss eines Fraktionssammlers.

- Anschluss eines Monitors zur Messung des pH-Wertes und der Leitfähigkeit (ÄKTApurifier).
- Anschluss eines Autosamplers.
- Anschluss von bis zu vier Luftsensoren.
- Anschluss externer Geräte mit digitalen Eingangs-/Ausgangssignalen über den Anschluss REMOTE der Systempumpe P-901/903.
- Anschluss eines AD-Wandlers.

8.4 Empfohlene Kapillaren und Säulen

Die nachstehenden Tabellen zeigen, welche Kapillarsätze für jede Säule verwendet werden sollten. Es ist sehr wichtig, dass die Empfehlungen in diesen Tabellen berücksichtigt werden. Die Kapillaren, die ausgetauscht werden sollten, werden im Abschnitt 8.1.2 unter *„Lage der Komponenten"* beschrieben.

8.4.1 ÄKTApurifier10

Hinweis: *Zur Verwendung von Niederdrucksäulen wie HiTrap, HiPrep™ und HiLoad muss eine zusätzliche Systemdruckmessung durchgeführt werden. Dies wird später in diesem Abschnitt beschrieben.*

X = empfohlener Kapillarsatz
P = nur zur Prüfung der Reinheit empfohlen
RF = kann mit der angegebenen Kapillare verwendet werden, wenn die optimale in der Säulenliste empfohlene Durchflussgeschwindigkeit verringert wird, um den Maximaldruck der Säule nicht zu überschreiten.

Ionenaustauschersäulen

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-5177-01	Mini Q™ 4,6/50 PE	X, P	
17-5166-01	Mono Q™ 5/50 GL	X	
17-5167-01	Mono Q 10/100 GL	RF	X
17-0506-01	Mono Q HR 16/10	RF	X
17-5178-01	Mini S™ 4,6/50 PE	X, P	
17-5168-01	Mono S™ 5/50 GL	X	
17-5169-01	Mono S 10/100 GL	RF	X
17-0507-01	Mono S HR 16/10	RF	X
17-5181-01	SOURCE™ 15Q 4,6/100 PE	RF	X
17-5182-01	SOURCE 15S 4,6/100 PE	RF	X

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-1177-01	RESOURCE™ Q, 1 ml		X
17-1179-01	RESOURCE Q, 6 ml		X
17-1178-01	RESOURCE S, 1 ml		X
17-1180-01	RESOURCE S, 6 ml		X
11-0013-02	HiTrap Capto™ Q, 1 ml		X
11-0013-03	HiTrap Capto Q, 5 ml		RF
11-0032-73	HiTrap Capto MMC, 1 ml		X
11-0032-75	HiTrap Capto MMC, 5 ml		RF
17-1153-01	HiTrap Q HP, 1 ml		X
17-1154-01	HiTrap Q HP, 5 ml		RF
17-1151-01	HiTrap SP HP, 1 ml		X
17-1152-01	HiTrap SP HP, 5 ml		RF
17-6002-33	HiTrap IEX Selection Kit, 7×1 ml		X
17-5053-01	HiTrap Q FF, 1 ml		X
17-5156-01	HiTrap Q FF, 5 ml		RF
17-5054-01	HiTrap SP FF, 1 ml		X
17-5157-01	HiTrap SP FF, 5 ml		RF
17-5055-01	HiTrap DEAE FF, 1 ml		X
17-5154-01	HiTrap DEAE FF, 5 ml		RF
17-5056-01	HiTrap CM FF, 1 ml		X
17-5155-01	HiTrap CM FF, 5 ml		RF
17-5162-01	HiTrap ANX FF (high sub), 1 ml		X
17-5163-01	HiTrap ANX FF (high sub), 5 ml		RF
17-5158-01	HiTrap Q XL, 1 ml		X
17-5159-01	HiTrap Q XL, 5 ml		RF
17-5160-01	HiTrap SP XL, 1 ml		X
17-5161-01	HiTrap SP XL, 5 ml		RF
17-5092-01	HiPrep 16/10 Q XL		RF
17-5093-01	HiPrep 16/10 SP XL		RF
17-5090-01	HiPrep 16/10 DEAE FF		RF
17-5091-01	HiPrep 16/10 CM FF		RF
17-5190-01	HiPrep 16/10 Q FF		RF
17-5191-01	HiPrep 16/10 ANX FF (high sub)		RF

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-5192-01	HiPrep 16/10 SP FF		RF
17-1064-01	HiLoad 16/10 Q Sepharose™ HP		X
17-1066-01	HiLoad 26/10 Q Sepharose HP		X
17-1137-01	HiLoad 16/10 SP Sepharose HP		X
17-1138-01	HiLoad 26/10 SP Sepharose HP		X

Reversed-Phase-Säulen

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-5068-01	SOURCE 15RPC ST 4,6/100	X	
17-5116-01	SOURCE 5RPC ST 4,6/150	X	
17-1181-01	RESOURCE RPC 1 ml	RF	X
17-1182-01	RESOURCE RPC 3 ml	RF	X
17-0704-01	µRPC C2/C18 SC 2,1/10	X, P	
17-5057-01	µRPC C2/C18 ST 4,6/100	X, P	

Größenausschlusssäulen

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-1458-01	Superdex™ Peptide PC 3,2/30	X, P	
17-5176-01	Superdex Peptide 10/30O GL	X	
17-0771-01	Superdex 75 PC 3,2/30	X, P	
17-5174-01	Superdex 75 10/300 GL	X	
17-1089-01	Superdex 200 PC 3,2/30	X, P	
17-5175-01	Superdex 200 10/300 GL	X	
17-5172-01	Superose™ 6 10/300 GL	X	
17-0673-01	Superose 6 PC 3,2/30	X,P	
17-5173-01	Superose 12 10/300 GL	X	
17-0674-01	Superose 12 PC 3,2/30	X,P	
17-1408-01	HiTrap Desalting, 5 ml		RF
17-5087-01	HiPrep 26/10 Desalting		RF
17-1139-01	HiLoad 16/60 Superdex 30 prep grade		X
17-1140-01	HiLoad 26/60 Superdex 30 prep grade		X
17-1068-01	HiLoad 16/60 Superdex 75 prep grade		X
17-1070-01	HiLoad 26/60 Superdex 75 prep grade		X
17-1069-01	HiLoad 16/60 Superdex 200 prep grade		X

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-1071-01	HiLoad 26/60 Superdex 200 prep grade		X
17-1165-01	HiPrep 16/60 Sephacryl™ S-100 HR		RF
17-1194-01	HiPrep 26/60 Sephacryl S-100 HR		RF
17-1166-01	HiPrep 16/60 Sephacryl S-200 HR		RF
17-1195-01	HiPrep 26/60 Sephacryl S-200 HR		RF
17-1167-01	HiPrep 16/60 Sephacryl S-300 HR		RF
17-1196-01	HiPrep 26/60 Sephacryl S-300 HR		RF

Säulen für hydrophobe Interaktionschromatographie

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-1184-01	RESOURCE ETH 1 ml		X
17-1185-01	RESOURCE ISO 1 ml		X
17-1186-01	RESOURCE PHE 1 ml		X
17-1187-01	RESOURCE HIC Test kit, 3×1 ml		X
11-0034-53	HiTrap HIC Selection Kit, 6×1 ml		X
17-1085-01	HiLoad 16/10 Phenyl Sepharose HP		X
17-1086-01	HiLoad 26/10 Phenyl Sepharose HP		X
17-5095-01	HiPrep 16/10 Phenyl FF (high sub)		RF
17-5094-01	HiPrep 16/10 Phenyl FF (low sub)		RF
17-5096-01	HiPrep 16/10 Butyl FF		RF
17-5097-01	HiPrep 16/10 Octyl FF		RF
17-1355-01	HiTrap Phenyl FF (high sub), 1 ml		X
17-5193-01	HiTrap Phenyl FF (high sub), 5 ml		RF
17-1353-01	HiTrap Phenyl FF (low sub), 1 ml		X
17-5194-01	HiTrap Phenyl FF (low sub) 5 ml		RF
17-1351-01	HiTrap Phenyl HP, 1 ml		X
17-5195-01	HiTrap Phenyl HP, 5 ml		RF
17-1359-01	HiTrap Octyl FF, 1 ml		X
17-5196-01	HiTrap Octyl FF, 5 ml		RF
17-1357-01	HiTrap Butyl FF, 1 ml		X
17-5197-01	HiTrap Butyl FF, 5 ml		RF
17-0978-13	HiTrap Butyl-S FF, 1 ml		X
17-0978-14	HiTrap Butyl-S FF, 5 ml		RF

Affinitätssäulen

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-5247-01	HisTrap™ HP, 1 ml		X
17-5248-01	HisTrap HP, 5 ml		RF
17-5319-01	HisTrap FF, 1 ml		X
17-5255-01	HisTrap FF, 5 ml		RF
17-5256-01	HisPrep™ FF, 16/10		RF
11-0004-58	HisTrap FF crude, 1 ml		X
17-5286-01	HisTrap FF crude, 5 ml		RF
17-0408-01	HiTrap Chelating HP, 1 ml		X
17-0409-01	HiTrap Chelating HP, 5 ml		RF
17-0716-01	HiTrap NHS-activated HP, 1 ml		X
17-0717-01	HiTrap NHS-activated HP, 5 ml		RF
17-5281-01	GSTrap™ HP, 1 ml		X
17-5282-01	GSTrap HP, 5 ml		RF
17-5130-01	GSTrap FF, 1 ml (5 Stck)		X
17-5131-01	GSTrap FF, 5 ml		RF
17-5234-01	GSTPrep™ FF 16/10		RF
11-0034-93	HiTrap MabSelect™ SuRe™, 1 ml		X
11-0034-94	HiTrap MabSelect SuRe, 5 ml		RF
17-5079-01	HiTrap rProtein A FF, 1 ml		X
17-5080-01	HiTrap rProtein A FF, 5 ml		RF
17-0402-01	HiTrap Protein A HP, 1 ml		X
17-0403-01	HiTrap Protein A HP, 5 ml		RF
17-0404-01	HiTrap Protein G HP, 1 ml		X
17-0405-01	HiTrap Protein G HP, 5 ml		RF
17-0406-01	HiTrap Heparin HP, 1 ml		X
17-0407-01	HiTrap Heparin HP, 5 ml		RF
17-5189-01	HiPrep 16/10 Heparin FF		RF
17-0412-01	HiTrap Blue HP, 1 ml		X
17-0413-01	HiTrap Blue HP, 5 ml		RF
17-5110-01	HiTrap IgM Purification HP, 1 ml		X
17-5111-01	HiTrap IgY Purification HP, 5 ml		RF

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-5112-01	HiTrap Streptavidin HP, 1 ml		X
17-5143-01	HiTrap Benzamidine FF (high sub), 1 ml		X
17-5144-01	HiTrap Benzamidine FF (high sub), 5 ml		RF

Säulen für Chromatofokussierung

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,50
17-5171-01	Mono P™ 5/200 GL	X	
17-5170-01	Mono P 5/50 GL	X	

8.4.2 ÄKTApurifier 100

Hinweis: *Wenn sie Niederdrucksäulen wie HiTrap und HiLoad verwenden, wechseln Sie zum Durchflussbegrenzer FR-902. Wenn der Druck den für diese Säulen angegebenen Druckgrenzwert überschreitet, muss eine zusätzliche Systemdruckmessung durchgeführt werden. Dies wird später in diesem Abschnitt beschrieben.*

X = empfohlener Kapillarsatz
(+) = kann die Trennschärfe verbessern
(x) = kann verwendet werden, wenn Durchfluss < 5 ml/min
(o) = sollte verwendet werden, wenn Durchfluss > 30 ml/min

Ionenaustauschersäulen

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,50	0,75	1,0
17-5166-01	Mono Q 5/50 GL	(+)	X	
17-5167-01	Mono Q 10/100 GL		X	
17-5168-01	Mono S 5/50 GL	(+)	X	
17-5169-01	Mono S 10/100 GL		X	
17-1177-01	RESOURCE Q, 1 ml	(+)	X	
17-1179-01	RESOURCE Q, 6 ml		X	(o)
17-1178-01	RESOURCE S, 1 ml	(+)	X	
17-1180-01	RESOURCE S, 6 ml		X	(o)
11-0013-02	HiTrap Capto Q, 1 ml	(+)	X	
11-0013-03	HiTrap Capto Q, 5 ml		X	
11-0032-73	HiTrap Capto MMC, 1 ml	(+)	X	
11-0032-75	HiTrap Capto MMC, 5 ml		X	
17-1153-01	HiTrap Q HP, 1 ml	(+)	X	
17-1154-01	HiTrap Q HP, 5 ml		X	

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,50	0,75	1,0
17-1151-01	HiTrap SP HP, 1 ml	(+)	X	
17-1152-01	HiTrap SP HP, 5 ml		X	
17-6002-33	HiTrap IEX Selection Kit, 7 x 1 ml	(+)	X	
17-5053-01	HiTrap Q FF, 1 ml	(+)	X	
17-5156-01	HiTrap Q FF, 5 ml		X	
17-5054-01	HiTrap SP FF, 1 ml	(+)	X	
17-5157-01	HiTrap SP FF, 5 ml		X	
17-5055-01	HiTrap DEAE FF, 1 ml	(+)	X	
17-5154-01	HiTrap DEAE FF, 5 ml		X	
17-5056-01	HiTrap CM FF, 1 ml	(+)		X
17-5155-01	HiTrap CM FF, 5 ml		X	
17-5162-01	HiTrap ANX FF (high sub), 1 ml	(+)		X
17-5163-01	HiTrap ANX FF (high sub), 5 ml		X	
17-5158-01	HiTrap Q XL, 1 ml	(+)		X
17-5159-01	HiTrap Q XL, 5 ml		X	
17-5160-01	HiTrap SP XL, 1 ml	(+)		X
17-5161-01	HiTrap SP XL, 5 ml		X	
17-5092-01	HiPrep 16/10 Q XL		X	
17-5093-01	HiPrep 16/10 SP XL		X	
17-5090-01	HiPrep 16/10 DEAE FF		X	
17-5091-01	HiPrep 16/10 CM FF		X	
17-5190-01	HiPrep 16/10 Q FF		X	
17-5191-01	HiPrep 16/10 ANX FF (high sub)		X	
17-5192-01	HiPrep 16/10 SP FF		X	
17-5181-01	SOURCE 15Q 4,6/100 PE		X	
17-5182-01	SOURCE 15S 4,6/100 PE		X	
17-1064-01	HiLoad 16/10 Q Sepharose HP		X	
17-1066-01	HiLoad 26/10 Q Sepharose HP		X	
17-1137-01	HiLoad 16/10 SP Sepharose HP		X	
17-1138-01	HiLoad 26/10 SP Sepharose HP		X	

Größenausschlusssäulen

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,50	0,75	1,0
17-5176-01	Superdex Peptide 10/300 GL	(+)	X	
17-5174-01	Superdex 75 HR 10/300 GL	(+)	X	
17-5175-01	Superdex 200 HR 10/300 GL	(+)	X	
17-5172-01	Superose 6 HR 10/300 GL	(+)	X	
17-5173-01	Superose 12 HR 10/300 GL	(+)	X	
17-1408-01	HiTrap Desalting, 5 ml		X	
17-5087-01	HiPrep 26/10 Desalting		X	
17-1139-01	HiLoad 16/60 Superdex 30 prep grade		X	
17-1140-01	HiLoad 26/60 Superdex 30 prep grade		X	
17-1068-01	HiLoad 16/60 Superdex 75 prep grade		X	
17-1070-01	HiLoad 26/60 Superdex 75 prep grade		X	
17-1069-01	HiLoad 16/60 Superdex 200 prep grade		X	
17-1071-01	HiLoad 26/60 Superdex 200 prep grade		X	
17-1165-01	HiPrep 16/60 Sephacryl S-100 HR		X	
17-1194-01	HiPrep 26/60 Sephacryl S-100 HR		X	
17-1166-01	HiPrep 16/60 Sephacryl S-200 HR		X	
17-1195-01	HiPrep 26/60 Sephacryl S-200 HR		X	
17-1167-01	HiPrep 16/60 Sephacryl S-300 HR		X	
17-1196-01	HiPrep 26/60 Sephacryl S-300 HR		X	

Säulen für hydrophobe Interaktionschromatographie

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,50	0,75	1,0
17-1184-01	RESOURCE ETH 1 ml		X	
17-1185-01	RESOURCE ISO 1 ml		X	
17-1186-01	RESOURCE PHE 1 ml		X	
17-1187-01	RESOURCE HIC Test kit, 3 x 1 ml	(+)	X	
11-0034-53	HiTrap HIC Selection Kit, 6 x 1 ml	(+)		X
17-1085-01	HiLoad 16/10 Phenyl Sepharose HP		(x)	X
17-1086-01	HiLoad 26/10 Phenyl Sepharose HP		(x)	X
17-5095-01	HiPrep 16/10 Phenyl FF (high sub)		X	
17-5094-01	HiPrep 16/10 Phenyl FF (low sub)		X	
17-5096-01	HiPrep 16/10 Butyl FF		X	
17-5097-01	HiPrep 16/10 Octyl FF		X	
17-1355-01	HiTrap Phenyl FF (high sub), 1 ml		X	
17-5193-01	HiTrap Phenyl FF (high sub), 5 ml		RF	
17-1353-01	HiTrap Phenyl FF (low sub), 1 ml		X	
17-5194-01	HiTrap Phenyl FF (low sub), 5 ml		RF	
17-1351-01	HiTrap Phenyl HP, 1 ml		X	
17-5195-01	HiTrap Phenyl HP, 5 ml		RF	
17-1359-01	HiTrap Octyl FF, 1 ml		X	
17-5196-01	HiTrap Octyl FF, 5 ml		RF	
17-1357-01	HiTrap Butyl FF, 1 ml		X	
17-5197-01	HiTrap Butyl FF, 5 ml		RF	
17-0978-13	HiTrap Butyl-S FF, 1 ml		X	
17-0978-14	HiTrap Butyl-S FF, 5 ml		RF	

Reversed-Phase-Säulen

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,50	0,75	1,0
17-5116-01	SOURCE 5RPC ST 4,6/150	X		
17-5068-01	SOURCE 15RPC ST 4,6/100		X	
17-1181-01	RESOURCE RPC 1 ml	(+)	X	
17-1182-01	RESOURCE RPC 3 ml		X	
17-0704-01	µRPC C2/C18 SC 2,1/10	X, P		
17-5057-01	µRPC C2/C18 ST 4,6/100	X, P		

Affinitätssäulen

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,50	0,75	1,0
17-5247-01	HisTrap HP, 1 ml	(+)	X	
17-5248-01	HisTrap HP, 5 ml		X	
17-5319-01	HisTrap FF, 1 ml	(+)	X	
17-5255-01	HisTrap FF, 5 ml		X	
17-5256-01	HisPrep FF, 16/10		X	
11-0004-58	HisTrap FF crude, 1 ml	(+)	X	
17-5286-01	HisTrap FF crude, 5 ml		X	
17-0408-01	HiTrap Chelating HP, 1 ml	(+)	X	
17-0409-01	HiTrap Chelating HP, 5 ml		X	
17-0716-01	HiTrap NHS-activated HP, 1 ml	(+)	X	
17-0717-01	HiTrap NHS-activated HP, 5 ml		X	
17-5281-01	GSTrap HP, 1 ml	(+)	X	
17-5282-01	GSTrap HP, 5 ml		X	
17-5130-01	GSTrap FF, 1 ml	(+)	X	
17-5131-01	GSTrap FF, 5 ml		X	
17-5234-01	GSTPrep FF 16/10		X	
11-0034-93	HiTrap MabSelect SuRe, 1 ml	(+)	X	
11-0034-94	HiTrap MabSelect SuRe, 5 ml		X	
17-5079-01	HiTrap rProtein A FF, 1 ml	(+)	X	
17-5080-01	HiTrap rProtein A FF, 5 ml		X	
17-0402-01	HiTrap Protein A HP, 1 ml	(+)	X	
17-0403-01	HiTrap Protein A HP, 5 ml		X	
17-0404-01	HiTrap Protein G HP, 1 ml	(+)	X	
17-0405-01	HiTrap Protein G HP, 5 ml		X	
17-0406-01	HiTrap Heparin HP, 1 ml	(+)	X	
17-0407-01	HiTrap Heparin HP, 5 ml		RF	
17-5189-01	HiPrep 16/10 Heparin FF		X	
17-0412-01	HiTrap Blue HP, 1 ml	(+)	X	
17-0413-01	HiTrap Blue HP, 5 ml		RF	
17-5110-01	HiTrap IgM Purification HP, 1 ml	(+)	X	
17-5111-01	HiTrap IgY Purification HP, 5 ml		X	
17-5112-01	HiTrap Streptavidin HP, 1 ml	(+)	X	

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,50	0,75	1,0
17-5143-01	HiTrap Benzamidine FF (high sub), 1 ml	(+)	X	
17-5144-01	HiTrap Benzamidine FF (high sub), 5 ml		RF	

Säulen für Chromatofokussierung

Code-Nr.	Bezeichnung der Säule	0,25	0,75	1,0
17-5171-01	Mono P 5/200 GL	(+)	X	
17-5170-01	Mono P 5/50 GL	(+)	X	

8.4.3 Auswählen von Kapillarsätzen für andere Säulen

Wählen Sie die Kapillarsätze wie unten beschrieben für die Säulen, die in den Tabellen in 8.4 unter *„Empfohlene Kapillaren und Säulen"* nicht aufgeführt sind.

Hinweis: *Stellen Sie sicher, dass die Säule selbst sauber ist und keinen zu hohen Gegendruck erzeugt, bevor Sie damit beginnen, das nachstehend beschriebene Verfahren durchzuführen.*

1 Wählen Sie ***View:Run Setup*** im ***Method Editor*** für die Methode, die verwendet wird.

2 Notieren Sie den spezifischen maximalen Gegendruck für die Säule bei der Variablen ***Column_PressureLimit*** auf der Seite ***Variables***.

Hinweis: *Der zulässige maximale Gegendruck bei einer selbstgepackten Säule sollte niemals 75 % des während des Packvorgangs verwendeten Drucks überschreiten.*

3 Installieren Sie die Säule und testen Sie einen Lauf bei der Durchflussgeschwindigkeit und mit den Eluenten, die verwendet werden sollen, mit dem Kapillarsatz mit Innendurchmesser 0,75 mm.

4 Wählen Sie den entsprechenden Kapillarsatz wie folgt:

- Wenn der erzeugte Gegendruck bei dem Durchfluss, der verwendet werden soll, innerhalb des vorgegebenen Druckgrenzwertes der Säule liegt, verwenden Sie den bereits installierten Kapillarsatz.
- Wenn der erzeugte Gegendruck bei der Durchflussgeschwindigkeit, die verwendet werden soll, weit unter dem vorgegebenen Druckgrenzwert der Säule liegt und das voraussichtliche Peak-Volumen weniger als 1 ml beträgt, ist es vorzuziehen, auf einen engeren Kapillarsatz mit dem Innendurchmesser von 0,5 mm zu wechseln. Wenn die Anforderungen an die untere Bandenverbreiterung weniger kritisch sind, verwenden Sie den bereits installierten Kapillarsatz.

- Wenn der erzeugte Gegendruck bei der Durchflussgeschwindigkeit, die verwendet werden soll, den vorgegebenen Druckgrenzwert der Säule überschreitet, wechseln Sie zu einem weiteren Kapillarsatz mit Innendurchmesser 1,0 mm. Wenn der vorgegebene Druckgrenzwert der Säule mit installiertem Kapillarsatz mit einem Innendurchmesser von 1,0 mm immer noch überschritten wird, wechseln Sie zum Durchflussbegrenzer FR-902 und prüfen Sie den erzeugten Gegendruck entsprechend der nachstehenden Beschreibung.

Hinweis: *Der Gegendruck kann sich z. B. während der Probeninjektion und Gradientenbildung aufgrund von Schwankungen der Viskosität erhöhen. Achten Sie darauf, dass diese Schwankungen bei der Auswahl des Innendurchmessers der Kapillare berücksichtigt werden.*

8.5 Einzelheiten zu BufferPrep

8.5.1 Erstellen Ihrer eigenen Rezepte

1 Wählen Sie ***Edit:BufferPrep Recipes*** im ***Method Editor***.

2 Klicken Sie auf ***New,*** um den Dialog ***New Recipe*** zu öffnen.

3 Wählen Sie eine Puffersubstanz aus der Liste. Wenn die benötigte Puffersubstanz nicht aufgelistet ist, kann eine neue Puffersubstanz definiert werden, siehe Abschnitt 8.5.2 unter *„Definieren einer neuen Puffersubstanz"* unten. Bis zu 5 Pufferkomponenten können hinzugefügt werden.

4 Stellen Sie die Stammkonzentration der Pufferlösung ein.

Es sollten Pufferkonzentrationen verwendet werden, die 2–4 Mal höher im Vergleich zur normalen Zubereitung sind. Wenn BufferPrep verwendet wird, wird die Pufferlösung 2–10 Mal verdünnt, abhängig von der Menge an Säure/Base, die verwendet werden muss, um den gewünschten pH-Wert zu erreichen.

Wir empfehlen, dass die Gesamtkonzentration für alle für das Rezept ausgewählten Puffersubstanzen zwischen 0,03 M und 0,2 M liegt (normalerweise 0,1 M für Ionenaustauschchromatographie).

5 Wählen Sie entweder ***Acid*** oder ***Base*** (HCl oder NaOH) aus der Pull-down-Liste und stellen Sie die Ausgangskonzentration ein (normalerweise 0,1 M).

6 Wählen Sie ein Salz aus der Pull-down-Liste. Wenn das benötigte Salz nicht aufgelistet ist, kann ein neues Salz definiert werden, siehe Abschnitt 8.5.3 unter *„Definieren eines neuen Salzes"* unten.

7 Stellen Sie die maximale Ausgangskonzentration des Salzes bei 100 %B ein (normalerweise 1,0 M). Die maximale Endkonzentration des Salzes beträgt die Hälfte der Konzentration der Ausgangsstammlösung.

8 Stellen Sie den für die Pufferlösung benötigten pH-Bereich ein.

Hinweis: *Um einen sinnvollen pH-Bereich einstellen zu können, muss der pKa-Wert bekannt sein. Klicken Sie auf die Schaltfläche Buffer substance und wählen Sie die Pufferkomponente. Die pKa-Werte werden in der Liste angezeigt. Normalerweise ist ein pH-Bereich ± 0,5 Einheiten um den pKa sinnvoll. Prüfen Sie die Puffertabellen, um exakte Bereiche zu erhalten.*

9 Um Anmerkungen zu den Rezepten hinzuzufügen, klicken Sie auf ***Notes*** und geben Sie den entsprechenden Text in das angezeigte Kästchen ein. Klicken Sie auf ***OK,*** um den Dialog ***Recipe Notes*** zu schließen.

10 Wenn Sie Ihr Rezept erstellt haben, klicken Sie auf ***Save As***. Geben Sie dem Rezept einen Namen. Das Rezept wird geprüft und wenn der ausgewählte pH-Bereich nicht möglich ist, wird eine Warnung angezeigt, die den Fehlerzustand angibt und Vorschläge zur Korrektur macht. Korrigieren Sie das Rezept und klicken Sie erneut auf ***Save As***.

Hinweis: *Die Prüfung schließt nicht mit ein, ob die Pufferkapazität für den gesamten pH-Bereich groß genug ist*.

11 Klicken Sie auf ***Close,*** um den Dialog ***BufferPrep Recipes*** zu schließen.

8.5.2 Definieren einer neuen Puffersubstanz

Stellen Sie sicher, dass alle pKa-Werte für die Substanz verfügbar sind, bevor Sie eine neue Puffersubstanz definieren. Die eingegebenen pKa-Werte sollten echte pKa-Werte (d. h. der pKa-Wert bei unendlicher Verdünnung) im Gegensatz zum scheinbaren pKa (d. h. gemessen bei Konzentration ungleich Null) sein. Siehe Abschnitt 8.5.5 unter *„Beispiele und Tipps"* für Informationen zu echtem und scheinbarem pKa. Es sollten die pKa-Werte bei 25 °C angegeben sein.

1 Klicken Sie auf ***New*** im Dialog ***BufferPrep Recipes,*** um den Dialog ***New Recipe*** zu öffnen. Klicken Sie auf die Schaltfläche ***Buffer substance*** und klicken Sie auf ***New*** im Dialog ***Define Buffer Substance***.

2 Geben Sie im Dialog ***New Component*** den Namen der neuen Puffersubstanz ein. Klicken Sie auf ***OK***.

3 Geben Sie in der Tabelle ***Define Buffer Substance*** den pKa-***Wert*** ein. Für jede Pufferkomponente können bis zu 3 Werte (***pKa1–pKa3***) eingegeben werden. Die pKa-Werte müssen in der aufsteigenden Reihenfolge der Werte eingegeben werden, wobei mit dem niedrigsten pKa-Wert begonnen wird. Wenn die Pufferkomponente weniger als drei pKa-Werte hat, sollten die anderen pKa-Werte auf Null gesetzt werden.

4 Geben Sie den dpKa/dT ***Wert*** (die Veränderung des pKa in Abhängigkeit von der Temperatur) für jeden pKa ein (***dpKa1/dT–dpKa3/dT***). Null bedeutet, dass sich der pKa bei Änderungen der Temperatur nicht verändert.

5 Geben Sie die ***Number of acidic protons*** für die Puffersubstanz in der Form, in der sie tatsächlich eingewogen wird, ein (Beispiel: Für NaH_2PO_4 geben Sie 2 ein, für Na_2HPO_4 geben Sie 1 ein, für Tris geben Sie 0 ein).

6 Geben Sie die Ladung des vollständig deprotonierten Ions unter ***Charge of deprotonated ion*** ein. Dies ist bei einer Säure ein negativer Wert, bei einer Base ist es 0. (Beispiel: Für NaH_2PO_4 geben Sie –3 ein, für Tris geben Sie 0 ein).

7 Klicken sie auf ***OK,*** um eine neue Puffersubstanz zur Liste der verfügbaren Pufferlösungen hinzuzufügen.

8.5.3 Definieren eines neuen Salzes

Wenn Sie ein neues Salz definieren, stellen Sie sicher, dass das neue Salz inert ist, d. h. ein Salz ohne Puffereigenschaften.

1 Klicken Sie im Dialog ***New Recipe*** auf ***Salt*** und klicken Sie auf ***New*** im Dialog ***Define Salt***.

2 Geben Sie den Namen des neuen Salzes im Dialog ***New Component*** ein. Klicken Sie auf ***OK***.

3 Geben Sie die Ladung des Anions bei ***Charge of the Anion*** ein (Beispiel: für Cl^- geben Sie –1 ein, für SO_4^{2-} geben Sie –2 ein).

4 Geben Sie die Ladung des Kations unter ***Charge of the Cation*** ein (Beispiel: für Na^+ geben Sie 1 ein, für Mg^{2+} geben Sie 2 ein).

5 Klicken Sie auf ***OK***, um die neuen Salze zur Liste der verfügbaren Salze hinzuzufügen.

8.5.4 Korrekturfaktoren

Um eine höhere pH-Genauigkeit zu erreichen, kann das Rezept bei der zu verwendenden Durchflussgeschwindigkeit um einen spezifischen pH-Wert herum fein abgestimmt werden. Wenn Sie das Scouting für einen breiten pH-Bereich durchführen, ist die Feinabstimmung weniger nützlich. Führen Sie BufferPrep manuell bei 0 und 100 %B wie folgt aus:

1 Wählen Sie im Menü ***System Control:Manual*** die Option ***Other*** aus.
Wählen Sie im Dialog ***Other instructions*** die Option ***BufferPrep Recipe***.
Wählen Sie das Rezept in der Liste ***Recipe Name***.
Klicken Sie auf ***Execute***.
Wählen Sie ***Pump***, um zum Dialog ***Pump instructions*** zu gelangen.
Wählen Sie ***Flow***.
Wählen Sie ***FlowRate***.
Klicken Sie auf ***Execute***.

2 Starten Sie einen Lauf manuell bei 0 %B. Stellen Sie sicher, dass das Pufferventil (optional) auf den entsprechenden Einlass (A11–A18) eingestellt ist.

3 Prüfen Sie den pH-Messwert, wenn er stabil ist.

4 Wechseln Sie zu 100 %B durch Einstellung der Anweisung ***Gradient*** in ***Manual:Pump*** auf 100 %B für ***Target*** und 0 für ***Length***. Klicken Sie auf ***Execute***.

5 Prüfen Sie den pH-Messwert, wenn er bei 100 %B stabil ist.

6 Wenn der Messwert sowohl bei 0 als auch bei 100 %B akzeptabel ist, müssen die Korrekturfaktoren nicht geändert werden.

7 Wenn der pH-Messwert nicht akzeptabel ist, können Sie die Faktoren für das Rezept korrigieren. Wählen Sie ***Edit:BufferPrep Recipes*** im Method Editor.
Klicken Sie auf ***New***.
Klicken Sie im Dialog ***New Recipe*** auf ***Correction factors***. Geben Sie die pH-Abweichung bei 0 und bei 100 %B ein. (Wenn der pH-Wert zum Beispiel auf 7,0 eingestellt ist und der tatsächliche pH-Wert bei 7,1 liegt, geben Sie 0,1 ein, oder wenn der tatsächliche pH-Wert bei 6,9 liegt, geben Sie -0,1 ein).

Hinweis: *Einige der vorprogrammierten Rezepte haben standardmäßige Korrekturfaktoren. Fügen Sie Ihre Abweichung zu diesen hinzu, um den korrekten Wert zu erhalten.*
Beispiel: Wenn Ihr voreingestellter Korrekturfaktor -0,2 lautet und Ihr Messergebnis bei pH 7 bei 7,1 liegt, geben Sie -0,2 + 0,1 = -0,1 ein.

8 Klicken Sie auf ***Save As***, um das Rezept zu speichern.

8.5.5 Beispiele und Tipps

Pufferkapazität
Wenn die Pufferkapazität für BufferPrep-Rezepte für einen breiten Bereich zu gering ist, gibt es zwei Alternativen:

- Wechseln Sie zu einem Rezept mit einer Pufferkomponente, deren pKa nahe dem benötigen pH liegt.
- Erhöhen Sie die Konzentration aller Pufferlösungen im Rezept für den breiten Bereich. Erhöhen Sie die Säurekonzentration um denselben Faktor wie die Pufferkonzentration. Beachten Sie, dass ein neues Rezept erstellt werden muss. Die Ionenstärke des Starteluenten wird auch erhöht.

Ionenstärke
Pufferkomponenten mit mehreren pKa-Werten liefern eine höhere Ionenstärke zu Beginn, wenn der pH-Wert bei sauren Pufferkomponenten über dem zweiten pKa und sogar noch höher über dem dritten pKa eingestellt wird. Dies kann zu Problemen führen, wenn Sie Peaks haben, die früh im Gradienten eluieren. Um dies zu verringern, verwenden Sie geringe Konzentrationen oder wechseln Sie, wenn möglich, zu Pufferkomponenten, die nur einen pKa-Wert haben.

Beispiel:
Ein Rezept mit 0,1 M Citrat (pKa 3,13, 4,76 und 6,40) hat eine Ionenstärke von ca. 0,22 bei pH 6, aber nur 0,05 M bei pH 4. Verwenden Sie stattdessen eine Lösung mit 0,03 M oder verwenden Sie 0,1 M MES bei pH 6.

Wahl des Eluenten
Um lokale Störungen des pH-Wertes zu vermeiden, die durch Pufferionen verursacht werden, die am Ionenaustauschprozess beteiligt sind, wählen Sie einen Eluenten mit Pufferionen derselben Ladung wie die Liganden des Ionenaustauschers.

Wählen Sie den pH-Wert des Startpuffers so, dass die an den Ionenaustauscher zu bindenden Substanzen geladen werden, z. B. mindestens 1 pH-Einheit unter dem isoelektrischen Punkt für Kationenaustauscher.

Beispiel:
Ein Rezept mit Na_2HPO_4 (pKa 2,15, 7,20 und 12,33) liefert keine genauen pH-Werte über ca. pH 7,6 (wenn mit HCl titriert).

Umrechnung der scheinbaren pKa in thermodynamische pKa
Nur pKa-Werte bei thermodynamischen Bedingungen (pKa bei unendlicher Verdünnung) dürfen in BufferPrep eingegeben werden. Wenn Sie eine neue Puffersubstanz eingeben, für die nur der scheinbare pKa bekannt ist, muss eine Umrechnung in den thermodynamischen pKa durchgeführt werden.

Der scheinbare pKa wird bei einer Konzentration ungleich Null gemessen. Sie finden den thermodynamischen pKa-Werte, indem Sie zum scheinbaren pKa den Wert addieren, den Sie in der nachstehenden Tabelle für die Pufferkonzentration finden, bei der der scheinbare pKa gemessen wurde.

Konz [M]	Base pKa1	Base pKa2	Säure pKa1	Säure pKa2
0,02	-0,05	-0,26	+0,05	+0,26
0,05	-0,07	-0,37	+0,07	+0,37
0,1	-0,09	-0,47	+0,09	+0,47
0,2	-0,12	-0,60	+0,12	+0,60

Beispiel:
Bis-Tris hat laut Liste einen pKa von 6,46 bei Konzentrationen von 0,1 M. Dies ist eine Base mit nur einem pKa. Unter Verwendung der obenstehenden Tabelle finden wir, dass 6,37 genauere Ergebnisse liefern sollte (6,46–0,09 = 6,37).

Zwitterionen
Die Verwendung von Zwitterionen in einem BufferPrep-Rezept kann sich schwierig gestalten. Alle Zwitterionen haben mindestens zwei pKa-Werte. Da BufferPrep alle pKa-Werte für die Pufferkomponente wissen muss, verwenden Sie keine Zwitterionen-Pufferkomponente, wenn die pKa-Werte nicht bekannt sind. Zweitens ist es wichtig zu wissen, in welcher Form die Komponente vorliegt, d. h. ob das Molekül acide Protonen enthält.

Beispiel:
Diese Beispiele können als Muster für Zwitterionen verwendet werden:

Bicin	pKa1 = 1,84 dpKa1/dT = Wert unbekannt, fügen Sie 0 ein pKa2 = 8,33 dpKa2/dT = -0,017 Anzahl der aciden Protonen = 1 Ladung des depronierten Ions = -1
HEPES	pKa1 ~ 3 dpKa1/dT = Wert unbekannt, fügen Sie 0 ein pKa2 = 7,39 dpKa2/dT = -0,014 Anzahl der aciden Protonen = 1 Ladung des depronierten Ions = -1

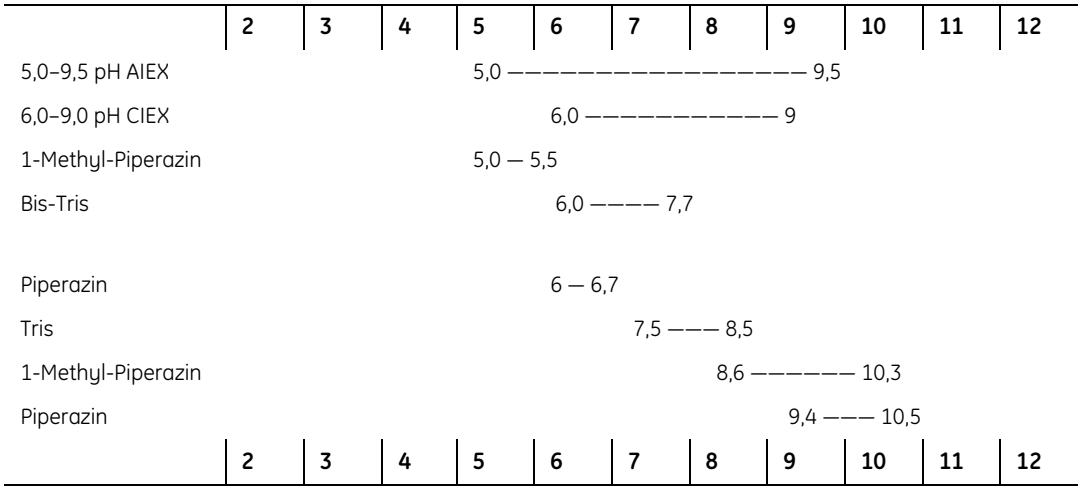
Kühlraum
Wenn die Werte dpKa/dT korrekt sind, kann BufferPrep ohne Probleme im Kühlraum verwendet werden. Verwenden Sie die folgenden Korrekturfaktoren, um die AIEX- und CIEX-Rezepte fein abzustimmen:

AIEX bei 5 °C	0 % B = +0,10	100 % B = 0,00
CIEX bei 5 °C	0 % B = 0,00	100 % B = –0,40

8.5.6 Überblick über die Rezepte

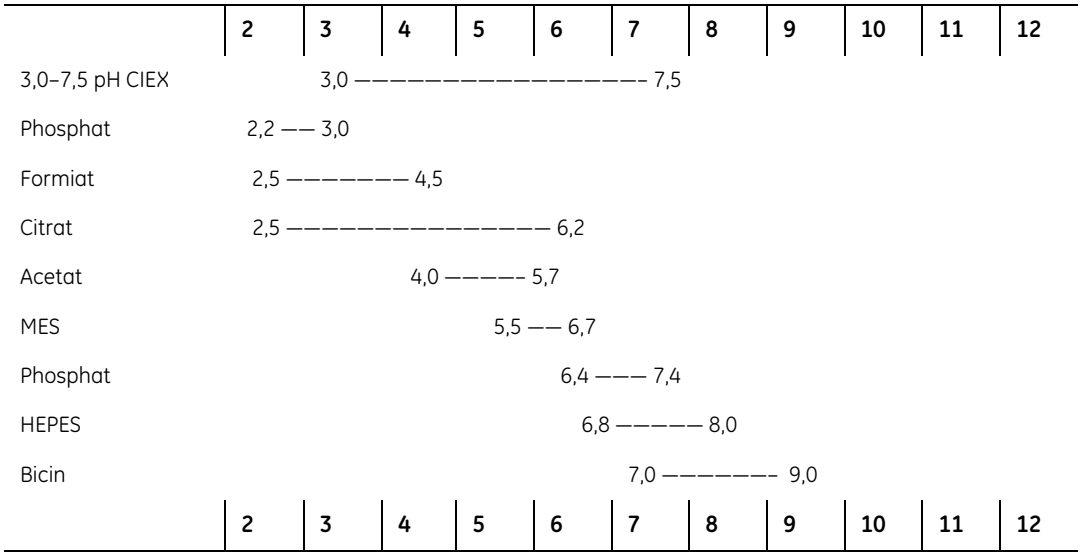
Daten der vorprogrammierten AIEX-Rezepte
Gradient 0,0–1,0 M NaCl

Puffer	**Titrieren mit**	**~ pH-Bereich**	**Standard-korrektur bei 0 %B 100 %B**		**Startleitfähigkeit niedriger – hoher pH-Wert**
5,0–9,5 pH AIEX-Mischung 0,05 M 1-Methyl-Piperazin 0,05 M Bis-Tris 0,025 M Tris	0,1 M HCl	5,0–9,5	0,0	0,0	3,2–0,8 ms/cm
6,0–9,0 pH AIEX-Mischung 0,07 M Bis-Tris 0,05 M Tris	0,1 M HCl	6,0–9,0	0,0	0,0	2,5–0,4 ms/cm
0,1 M Bis-Tris	0,1 M HCl	6,0–7,7	+0,2	0,0	2,2–0,4 ms/cm
0,1 M 1-Methyl-Piperazin	0,1 M HCl	5,0–5,5 8,6–10,3	0,0 -0,1	-0,1 -0,2	2,4–0,6 ms/cm 3,3–2,8 ms/cm
0,1 M Piperazin	0,1 M HCl	6,0–6,7 9,4–10,5	-0,1 -0,2	-0,3 -0,4	2,4–1,1 ms/cm 3,4–2,9 ms/cm
0,1 M Tris	0,1 M HCl	7,5–8,5	0,0	-0,2	2,4–1,3 ms/cm



Daten für vorprogrammierte CIEX-Rezepte
Gradient 0,0–1,0 M NaCl

Puffer	**Titrieren mit**	**~ pH-Bereich**	**Standard-korrektur bei 0 %B 100 %B**	**Startleit-fähigkeit niedriger – hoher pH-Wert**
3,0–7,5 pH CIEX 0,03 M Phosphat-Na_2HPO_4 0,03 M Na-Formiat 0,06 M Na-Acetat	0,1 M HCl	3,0–7,5	0,001 ml/min-0,2	4,2–5,7 ms/cm
0,1 M Na-Acetat	0,1 M HCl	4,0–5,7	0,0 -0,1	3,2–3,8 mS/cm
0,1 M Bicin	0,1 M NaOH	7,0–9,0	+0,1 0,0	0,4–1,7 ms/cm
0,03 M Na3-Citrat	0,1 M HCl	2,5–6,2	0,0§ -0,2	4,2–3,0 mS/cm
0,1 M Na-Formiat	0,1 M HCl	2,5–4,5	0,0 -0,2	4,4–3,5 ms/cm
0,1 M HEPES	0,1 M NaOH	6,8–8,0	+0,2 +0,3	0,6–1,6 ms/cm
0,1 M MES	0,1 M NaOH	5,5–6,7	+0,1 +0,1	0,7–1,6 ms/cm
0,03 M Phosphat-Na_2HPO_4	0,1 M HCl	2,2–3,0 6,4–7,4	0,0 -0,3 0,0 -0,3	2,4–2,6 ms/cm 5,0–2,6 ms/cm



8.6 Technische Spezifikationen

Für die vollständigen Spezifikationen für jede Komponente siehe die einzelnen User Manuals und Instructions. Die relevanten Systemspezifikationen werden nachstehend aufgeführt.

8.6.1 Betriebsdaten

Pumpe P-901	
Bereich der Durchfluss-geschwindigkeit	0,01–100 ml/min
Stufen der Durchfluss-geschwindigkeit	0,01 ml/min
Druckbereich	0–10 MPa (100 bar, 1450 psi)
Bereich der pH-Stabilität	1–13 (1–14 < 1 Tag Exposition)
Viskosität	Max. 5 cP
Genauigkeit der Durchfluss-geschwindigkeit	± 2 % oder 20 µl/min, je nachdem, was größer ist
Reproduzierbarkeit der Durchflussgeschwindigkeit	rsd < 0,5 % bei Durchflussgeschwindigkeit 0,5 ml/min

Gradientenzusammensetzung Genauigkeit Reproduzierbarkeit	 ± 1 % bei 0,5–100 ml/min rsd < 0,25 % bei Durchflussgeschwindigkeit < 0,5–100 ml/min
Innenvolumen Hubvolumen Gesamtvolumen	 286 µl 1850 µl
Pumpe P-903	
Bereich der Durchfluss-geschwindigkeit Stufen der Durchfluss-geschwindigkeit	0,001–10 ml/min 0,001 ml/min
Druckbereich	0–25 MPa (250 bar, 3625 psi)
Bereich der pH-Stabilität	1–13 (1–14 < 1 Tag Exposition)
Viskosität	Max. 5 cP
Genauigkeit der Durchflussg-eschwindigkeit	± 2 % oder 2 µl/min, je nachdem, was größer ist (bei aktiviertem Kompressionsausgleich)
Reproduzierbarkeit der Durchflussgeschwindigkeit	rsd < 0,5 % bei Durchflussgeschwindigkeit 0,05 ml/min
Gradientenzusammensetzung Genauigkeit Reproduzierbarkeit	 ± 1 % bei 0,05–10 ml/min rsd < 0,25 % bei Durchflussgeschwindigkeit < 0,05–10 ml/min
Innenvolumen Hubvolumen Gesamtvolumen	 35,6 µl 556 µl
UV-900-Monitor	
Wellenlängenbereich	190-700 nm in Schritten von of 1 nm, 3 Wellenlängen gleichzeitig
Bandbreite	4 nm
Genauigkeit der Wellenlängen	± 2 nm
Reproduzierbarkeit der Wellenlängen	± 0,01 nm
Umschaltzeit zwischen Wellenlängen	< 500 ms (ein Zyklus von 214 nm auf 254 nm und zurück auf 214)

Linearität	< 2 % Abweichung bis zu 2 AU bei 260 nm mit Uracil bei pH 2
Rauschen[1] (bei 230 nm)	< $6x10^{-5}$ AU, mit 10 mm-Zelle, H_2O bei 1 ml/min
Drift1 (bei 254 nm)	< $2x10^{-4}$ AU/h
Durchflusszelle Max. Durchfluss-geschwindigkeit Max. Druck	 100 ml/min 2 MPa (20 bar, 290 psi)
1. Typische Werte bei Raumtemperatur nach Warmlaufen	
UPC-900-Monitor **UV-Messung**	
Absorptionsbereich	0,01–5,0 AU (Vollausschlag)
Bereich der automatischen Nullpunkteinstellung	-0,2–2,0 AU
Anpassung der Basislinie	0–100 % des Vollausschlags anpassbar
Wellenlängen Hg-Lampe, fest angebracht durch Filterwechsel Zn-Lampe (Option)	 254 und 280 nm 313, 365, 405, 436 und 546 nm 214 nm
UV-Durchflusszelle, 2 mm	
Durchflussgeschwindigkeit	0–100 ml/min
Max. Druck	4,0 MPa (40 bar, 580 psi)
Max. Gegendruck	0,05 MPa bei 100 ml/min
Temperaturbereich der Flüssigkeit	+4 bis +60 °C
Länge des Strahlengangs	2 mm

Zellenvolumen	2 µl (30 µl Detektorvolumen)
UV-Durchflusszelle, 5 mm	
Durchflussgeschwindigkeit	0–20 ml/min
Max. Druck	4,0 MPa (40 bar, 580 psi)
Max. Gegendruck	0,02 MPa bei 20 ml/min
Länge des Strahlengangs	5 mm
Zellenvolumen	6 µl (10 µl Detektorvolumen)
Leitfähigkeitseinheit	
Leitfähigkeitsbereich	1 µS/cm–999,9 mS/cm
Abweichung von der theoretischen Leitfähigkeit	Max. ± 2 % des Kalibrationsbereichs bei Vollausschlag oder ± 10 µS/cm, je nachdem, was größer ist im Bereich 1 µS/cm–300 mS/cm
Reproduzierbarkeit	Max. ± 1 % des Maximums oder ± 5 µS/cm, je nachdem,was größer ist im Bereich 1 µS/cm – 300 mS/cm
Rauschen	Max. ± 0,5 % des kalibrierten Bereichs bei Vollausschlag
Leitfähigkeitsdurchflusszelle	
Durchflussgeschwindigkeit	0–100 ml/min
Max. Druck	5 MPa (50 bar, 725 psi)
Max. Gegendruck	0,01 MPa bei 100 ml/min
pH-Messung (optional)	
pH-Bereich	0 bis 14

8.6.2 Physikalische Daten

Schutzart	IP 20
Leistungsaufnahme	100–240 V ~ 50–60 Hz
Stromverbrauch	600 VA
Sicherungsspezifikation	ÄKTApurifier: T 6,3 AL/250 VAC
Abmessungen, B × H × T	450 × 610 × 490 mm
Gewicht	ÄKTApurifier: 41 kg ÄKTApurifier UPC: 38 kg
Umgebung	+4 bis +40 °C, 10–95 % relative Luftfeuchtigkeit (nicht kondensierend), 84-106 kPa (840–1060 mbar Luftdruck).

8.6.3 Einhaltung der Sicherheitsstandards

Das CE -Symbol und die Konformitätserklärung	Das CE-Symbol und die entsprechende Konformitätserklärung für das Instrument gelten nur, wenn das Gerät: • für die Verwendung im Labor, nicht für klinische oder *In-vitro*-Zwecke verwendet wird • als einzeln stehende Einheit verwendet wird • in demselben Zustand verwendet wird, in dem es von GE Healthcare geliefert wurde. Ausgenommen davon sind die in diesem Handbuch beschriebenen Änderungen • an andere Module von GE Healthcare oder ander empfohlene Produkte angeschlossen ist, die ebenfalls mit dem CE-Symbol gekennzeichnet sind.
Sicherheitsstandards	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der geltenden Niederspannungsrichtlinie (NSR) 73/23/EWG durch die folgenden harmonisierten Standards: • EN 61010-1 • IEC 61010-1 • CAN/CSA-C22,2 No. 61010-1 • UL 61010-1

EMC-Standards	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der EMC-Richtlinie 89/336/EWG durch die folgenden harmonisierten Standards: • EN 61326 (Emission und Störfestigkeit) • EN 55011, GR 1, Klasse A (Emission) Dies ist ein Produkt der Klasse A. In häuslicher Umgebung kann es Funkstörungen hervorrufen, wogegen der Benutzer geeignete Gegenmaßnahmen zu ergreifen hat. Dieses Produkt entspricht Teil 15 der FCC-Regeln (Emission). Der Betrieb unterliegt den folgenden zwei Bedingungen: • Dieses Gerät darf keine schädlichen Störungen verursachen. • Dieses Gerät muss sicher gegen Störungen sein, speziell gegen Störungen, die ein Fehlverhalten des Geräts verursachen können.

8.6.4 Hardware-Anforderungen

Siehe Abschnitt *System requirements* in den mitgelieferten *UNICORN User Manuals*.

8.6.5 Software-Anforderungen

Siehe Abschnitt *System requirements* in den mitgelieferten *UNICORN User Manuals*.

8.6.6 Netzwerk-Anforderungen

Siehe Abschnitt *System requirements* in den mitgelieferten *UNICORN User Manuals*.

8.6.7 Materialien der ÄKTApurifier-Komponenten

Die flüssigkeitsführenden Materialien des ÄKTApurifier sind nachstehend aufgelistet:

	FFKM	Silikon	PEEK	PTFE	FEP	ETFE	CTFE	ECTFE	PP	PVDF	PE	Titanlegierung	Quarz	Gold	Aluminiumoxid	Edelstahl	Rubin/ Saphir
Pumpe P-900			X	X				X		X	X	X			X	X	X
Monitor UV-900			X	X			X					X	X				
Monitor UPC-900			X	X								X	X				
Durchfluss-begrenzer			X	X		X								X			
Mischer M-925	X		X	X													
INV-907			X														
Anschluss-stücke/ Anschlüsse			X			X											
In-Line-Filter			X														
Einlassfilter									X			X					

FFKM = Perfluorkautschuk
PEEK™ = Polyetheretherketon
PTFE = Polytetrafluorethylen
FEP = Perfluorethylenpropylen-Copolymer
ETFE = Ethylentetrafluorethylen
CTFE = Chlortrifluorethylen
ECTFE = Ethylenchlortrifluorethylen
PP = Polypropylen
PVDF = Polyvinylidenfluorid
PE = Polyethylen

8.7 Chemische Beständigkeit und chemische Verträglichkeit

Die chemische Beständigkeit des ÄKTApurifier gegenüber den meisten gewöhnlich bei der Flüssigkeitschromatographie verwendeten Chemikalien ist in der nachstehenden Tabelle angegeben.

Die Daten basieren auf den folgenden Annahmen:

1 Die synergistischen Effekte der Chemikalienmischungen wurden nicht berücksichtigt.

2 Raumtemperatur und begrenzter Gegendruck werden angenommen.

Hinweis: *Chemische Wirkungen sind zeit- und druckabhängig. Sofern nicht anders angegeben, sind alle Konzentrationen 100 %.*

Chemikalie	**Exposition < 1 Tag bis 2 Monate**		**Anmerkungen**
Acetaldehyd	OK	OK	
Aceton, 10 %	OK	Vermeiden	PVDF wird durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Acetonitril	OK	OK	FFKM, PP und PE quellen auf. PEEK wird durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Ameisensäure	OK	OK	Silikon nicht resistent
Ammoniak, 30 %	OK	OK	Silikon wird durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Ammoniumchlorid	OK	OK	
Ammoniumhydrogencarbonat	OK	OK	
Ammoniumnitrat	OK	OK	
Ammoniumsulfat	OK	OK	
1-Butanol	OK	OK	
2-Butanol	OK	OK	
Chloroform	OK	Vermeiden	ECTFE, PP und PE werden durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Cyclohexan	OK	OK	
Dimethylsulfoxid	Vermeiden	Vermeiden	PVDF wird durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
1, 4-Dioxan	Vermeiden	Vermeiden	ETFE, PP, PE und PVDF werden durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Essigsäure, < 5 %	OK	OK	

Chemikalie	Exposition < 1 Tag bis 2 Monate		Anmerkungen
Essigsäure, 70 %	OK	OK	
Ethanol	OK	OK	
Ethylacetat	OK	Vermeiden	Silikon nicht resistent. Druckgrenzwert für PEEK nimmt ab.
Ethylenglycol	OK	OK	
Glycerol	OK	OK	
Guanidiniumhydrochlorid	OK	OK	
Harnstoff	OK	OK	
Hexan	OK	Vermeiden	Silikon nicht resistent. Druckgrenzwert für PEEK nimmt ab
Isopropanol	OK	OK	
Kaliumcarbonat	OK	OK	
Kaliumchlorid	OK	OK	
Methanol	OK	OK	
Natriumacetat	OK	OK	
Natriumbicarbonat	OK	OK	
Natriumcarbonat	OK	OK	
Natriumchlorid	OK	OK	
Natriumhydrogensulfat	OK	OK	
Natriumhydroxid 2 M	OK	Vermeiden	Titan, PVDF und Borosilicatglas werden durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Natriumsulfat	OK	OK	
Natriumtetraborat	OK	OK	
Phosphorsäure, 10 %	OK	Vermeiden	Titan und Aluminiumoxid werden durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Pyridin	Vermeiden	Vermeiden	ETFE, PP und PE nicht resistent
Reinigungsmittel	OK	OK	
Salpetersäure, verdünnt	OK	Vermeiden	Silikon nicht resistent
Salpetersäure, 30 %	Vermeiden	Vermeiden	Elgiloy wird durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Salzsäure, 0,1 M	OK	OK	Silikon nicht resistent
Salzsäure, > 0,1 M	OK	Vermeiden	Silikon nicht resistent. Titan wird bei langfristiger Anwendung beeinträchtigt.

Chemikalie	**Exposition < 1 Tag bis 2 Monate**		**Anmerkungen**
Schwefelsäure, mittlere Konzentration	Vermeiden	Vermeiden	
Schwefelsäure, verdünnt	OK	Vermeiden	PEEK und Titan werden durch langfristige Verwendung beeinträchtigt
Tetrachlorethylen	Vermeiden	Vermeiden	Silikon, PP und PE sind nicht resistent
Tetrahydrofuran	Vermeiden	Vermeiden	Silikon, ETFE, CTFE, PP und PE sind nicht resistent
Toluol	OK	Vermeiden	Druckgrenzwert für PEEK nimmt ab
Trichloressigsäure, 1 %	OK	OK	
Trifluoressigsäure, 1 %	OK	OK	
Zitronensäure	OK	OK	
o-Xylol p-Xylol	OK	Vermeiden	Silikon, PP und PE werden durch langfristige Verwendung beeinträchtigt

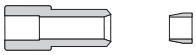
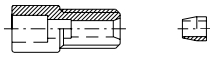
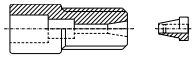
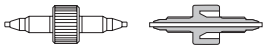
8.8 Bestellinformationen

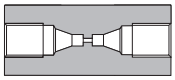
Artikel	Menge/ Packung	Code-Nr.
System ÄKTApurifier 10	1	28-4062-64
System ÄKTApurifier 100	1	28-4062-66
System ÄKTApurifier UPC 10	1	28-4062-68
System ÄKTApurifier UPC 100	1	28-4062-71
Monitor pH/C-900	1	18-1107-76
Pumpe P-901		
Pumpe P-901	1	18-1114-00
Dichtungssatz, 100 ml, einschließlich 4 Kolbendichtungen und 4 Spülmembranen	1	18-1113-12
Kolbensatz, 100 ml	1	18-1112-13
Einlassleitungssatz, 100 ml	1	18-1114-40
Kapillaren für Pumpenkopf 100 ml (zwei Kapillaren für ein Pumpenmodul)	1	18-1117-52
Spül-/Ablaufgehäuse 100 ml	1	18-1112-03
Pumpenkopf, 100 ml komplett	1	18-1128-48
Pumpe P-903		
Pumpe P-903	1	18-3000-00
Dichtungssatz, 10 ml, einschließlich 2 Kolbendichtungen, 2 Spülmembranen un 2 O-Ringe	1	18-1120-77
Kolbensatz, 10 ml	1	18-1120-75
Einlassleitungssatz, 10 ml	1	18-1119-26
Kapillaren für Pumpenkopf 10 ml (zwei Kapillaren für ein Pumpenmodul)	1	18-1120-81
Spül-/Ablaufgehäuse 10 ml	1	18-1120-76
Pumpenkopf, 10 ml komplett	1	18-1128-47
Pumpen P-901 und P-903		
Schlauchsatz für Hinterkolbenspülung	1	18-1113-32
Entlüftungssatz	2	18-1124-53
Entlüftungsventil	1	18-1128-87
O-Ring für Entlüftungsventil	10	19-0036-01
Sperrventilsatz, einschließlich: 1 Einlasssperrventil 1 Auslasssperrventil	1	18-1128-66

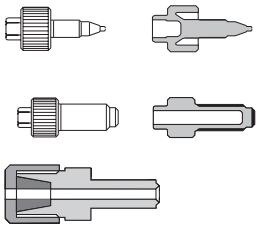
Artikel	Menge/ Packung	Code-Nr.
UPC-900-Monitor		
UPC-900-Monitor	1	18-1128-95
HG-Lampe und Gehäuse komplett	1	18-1128-22
Zn-Lampe und Gehäuse komplett	1	18-1128-23
UV-Durchflusszelle mit 5 mm	1	18-1128-24
UV-Durchflusszelle, 2 mm	1	18-1128-25
Filter 214 nm	1	18-0622-01
Filter 254 nm	1	18-0620-01
Filter 280 nm	1	18-0621-01
Filter 313 nm	1	18-0623-01
Filter 365 nm	1	18-0624-01
Filter 405 nm	1	18-0625-01
Filter 436 nm	1	18-0626-01
Filter 546 nm	1	18-0627-01
Filterrad komplett	1	18-0647-01
UV-900-Monitor		
UV-900-Monitor komplett, aber ohne Durchflusszellen	1	18-1108-35
Durchflusszelle UV-900, 2 mm	1	18-1111-10
Durchflusszelle UV-900, 10 mm	1	18-1111-11
Werkzeug zum Lösen der Glasfasern	1	18-1111-16
pH- und Leitfähigkeitsüberwachung		
pH-Elektrode mit Zelle und Halter, runde Spitze	1	18-1134-84
pH-Elektrode, runde Spitze	1	18-1111-26
Dummy-Elektrode, runde Spitze	1	18-1111-03
Leitfähigkeitszelle	1	18-1111-05

Artikel	Menge/ Packung	Code-Nr.
Mischer M-925		
Mischer M-925 einschließlich ein UniNet-Kabel	1	18-1118-89
Mischkammern 0,6 ml 2 ml 5 ml 12 ml	 1 1 1 1	 18-1118-90 18-1118-91 18-1118-92 18-1118-93
Ventil INV-907		
Ventil INV-907 einschließlich ein UniNet-Kabel (Einfüllport, Nadel und Spritzenhalter nicht eingeschlossen)	1	18-1108-40
Injektionssatz INV-907 einschließlich: Einfüllport 0,7 mm, Nadel und Spritzenhalter	1	18-1110-89
Ventilsatz INV-907 einschließlich Kanalplatte und Verteilerplatte	1	18-1109-05
Befestigungsbügel	1	18-1109-11
Probenschleifen: 10 µl 100 µl 500 µl 1 ml 2 ml	 1 1 1 1 1	 18-1120-39 18-1113-98 18-1113-99 18-1114-01 18-1114-02
Kabel		
UniNet, 0,18 m	1	18-1109-72
UniNet, 0,3 m	1	18-1109-73
UniNet, 0,7 m	1	18-1109-74
UniNet, 1,5 m	1	18-1117-75
UniNet, 3,0 m	1	18-1109-75
UniNet, 15,0 m	1	18-1117-74
Netzkabel, US-Standard	1	19-2447-01
Netzkabel, EU-Standard	1	19-2448-01
Signalkabel, 6-Pol mini-DIN – offen	1	18-1110-64

Artikel	Menge/ Packung	Code-Nr.
Einlassfilter		
Einlassfiltersatz	5	11-0004-14
Filterhaltersatz	1	11-0004-07
Schraubdeckelsatz GL45	1	11-0004-10
Einlassfiltersatz, 1 Filter, 1 Netz, 1 Deckel (GL45)	1	18-1113-15
Kapillaren		
PEEK-Kapillare, Innendurchmesser 0,25 mm, Außendurchmesser 1/16"	2 m	18-1120-95
PEEK-Kapillare, Innendurchmesser 0,50 mm, Außendurchmesser 1/16"	2 m	18-1113-68
PEEK-Kapillare, Innendurchmesser 0,75 mm, Außendurchmesser 1/16"	2 m	18-1112-53
PEEK-Kapillare, Innendurchmesser 1,0 mm, Außendurchmesser 1/16"	2 m	18-1115-83
Kapillaren		
Tefzel-Kapillare, Innendurchmesser 0,25 mm, Außendurchmesser 1/16"	2 m	18-1121-36
Tefzel-Kapillare, Innendurchmesser 0,50 mm, Außendurchmesser 1/16"	2 m	18-1120-96
Tefzel-Kapillare, Innendurchmesser 0,75 mm, Außendurchmesser 1/16"	2 m	18-1119-74
Teflon-Kapillare, Innendurchmesser 0,75 mm, Außendurchmesser 1/16"	2 m	18-1112-54
Teflon-Kapillare, Innendurchmesser 1,6 mm, Außendurchmesser 1/8"	3 m	18-1121-16
Teflon-Kapillare, Innendurchmesser 2,9 mm, Außendurchmesser 3/16"	3 m	18-1112-47
Kapillarensatz: ÄKTApurifier 10, Innendurchmesser 0,25 mm	1	18-1123-34
Kapillarensatz: ÄKTApurifier 10, Innendurchmesser 0,5 mm	1	18-1123-33

	Artikel	Menge/ Packung	Code-Nr.
	Verbindungsstücke und Anschlüsse		
	Fingertight Anschluss, 1/16" für Kapillaren mit Außendurchmesser 1/16", PEEK	10	18-1112-55
	Anschluss für Leitungen, für Leitungen mit Außendurchmesser 3/16", PEEK	10	18-1112-49
	Endringe, für Leitungen mit Außendurchmesser 3/16", PEEK	10	18-1112-48
	Anschluss für Leitungen für Leitungen mit Außendurchmesser 1/8", PEEK	10	18-1121-17
	Endringe für Leitungen mit Außendurchmesser 1/8", PEEK	10	18-1121-18
	Anschluss für Kapillaren für Kapillaren mit Außendurchmesser 1/16", PEEK	10	18-1127-07
	Endringe für Kapillaren mit Außendurchmesser 1/16", PEEK	10	18-1127-06
	Verbindungsstück, 1/16"-Innengewinde/ M6-Außengewinde, PEEK	6	18-1112-57
	Verbindungsstück, Luer-Innengewinde/1/16"-Außengewinde, PEEK	2	18-1112-51
	Verbindungsstück, M6-Innengewinde/1/16"-Außengewinde, PEEK	8	18-1112-58
	Verbindungsstück, 5/16"- 32-Innengewinde/HPLC-Außengewinde, PEEK	8	18-1142-08
	Anschlussstück, 1/16"-Außengewinde/1/16"-Außengewinde für Leitungen mit Außendurchmesser 1/16", PEEK	10	18-1120-92





Artikel	Menge/ Packung	Code-Nr.
Verbindungsstücke und Anschlüsse		
Verbindungsstück, 1/16"-Innengewinde/1/16"-Innengewinde, für Kapillaren mit Außendurchmesser 1/16", Titan	1	18-3855-01
Stop plug, 1/16", PEEK	5	18-1112-52
Stop plug, 5/16", PEEK	5	18-1112-50
Anschluss für Kapillaren/M6-Außengewinde	1	18-1017-98
Zubehörteile		
ÄKTApurifier-BufferPrep-Satz, einschließlich zweier Umschaltventile und Halter. Leitungen und Anschlüsse für 10-Systeme und 100-Systeme.	1	28-4044-73
Durchflussbegrenzer FR-902, 0,2 MPa	1	18-1121-35
Durchflussbegrenzer FR-904, 0,4 MPa	1	18-1119-63
Kurzer Säulenhalter	1	18-1113-17
Langer Säulenhalter	1	18-1126-32
Kleine Säulenklammer	1	18-1149-98
Halter für Stativstange	1	18-1113-19
Kapillarschneider	1	18-1112-46
In-line-Filter, (10 ml-Systeme)	1	18-1118-01
In-line-Filter-Satz, (10 ml-Systeme) 2 Filter	2	18-1120-94
In-line-Filter, (100 ml-Systeme)	1	18-1112-44
In-line-Filter-Satz, (100 ml-Systeme) 10 Filter und 2 Netze	10	18-1027-11
In-line-Filter, (100 ml-Systeme) 25 Filter	25	18-1130-23

Artikel	Menge/ Packung	Code-Nr.
Benutzerhandbücher		
Komplette ÄKTApurifier Manual Box, enthält alle User Manuals und Instructions für alle Komponenten im ÄKTApurifier 10/100	1	11-0014-51
Komplette ÄKTApurifier UPC Manual Box, enthält alle User Manuals und Instructions für alle Komponenten im ÄKTApurifierUPC 10/100	1	11-0014-51
Handbuchsatz für UNICORN 5.10, einschließlich: – Getting Started – User Reference Manual Chapter Teil 1 – User Reference Manual Chapter Teil 2 – Administration and Technical Manual	1	28-4010-25
ÄKTApurifier Benutzerhandbuch	1	28-4079-53
ÄKTApurifier Getting started	1	28-4079-54
Optional Configurations ÄKTApurifier User manual	1	28-4079-56
Pump P-900 User Manual	1	18-1120-04
Monitor UPC-900 User Manual	1	18-1125-55
Monitor UV-900 User Manual	1	18-1120-05

Stichwortverzeichnis

A
Abfallentsorgung ... 12
Anforderungen
  Hardware ... 166
  Netzwerk ... 166
  Software ... 166
Anschließen der Säule ... 72
Anschlüsse
  Stromnetz ... 128
  UniNet-1 ... 127
  UniNet-2 ... 127
Austauschen der Kapillarensätze ... 132
Auswechseln von Kapillaren ... 119

B
Bedienungstasten ... 70
Betrieb im Kühlraum ... 89
Betriebsdaten
  Pumpe P-901 ... 161
  Pumpe P-903 ... 162
Blockieren der Wählräder ... 82
BufferPrep ... 92
  Beispiele und Tipps ... 157
  Bestellinformationen ... 176
  Einzelheiten ... 153
  Erstellen Ihrer eigenen Rezepte ... 153
  Feinabstimmung ... 98
  im Kühlraum ... 159
  Mischen von Gradienten ... 91
  Strategie für die Verwendung ... 95
  Überblick über die Rezepte ... 159
  Vorbereitung des Systems für ... 96
  Was ist das ... 92
BufferPrep-Satz ... 94

C
CE-Kennzeichen ... 9, 165
Chemische Beständigkeit ... 168
Computeranforderungen ... 166
CU-950 ... 28

D
Definieren eines neuen Salzes ... 155
Delay-Volumen berechnen ... 135
Drucken der Methodenanweisungen ... 88
Durchflussbegrenzer FR-902/904 ... 8, 140, 176
Durchflussfraktionierung ... 60
Durchflussregelung ... 102
Durchführen des Installationstests ... 36

E
Einhaltung der Sicherheitsstandards ... 165
Einlassfilter ... 174
Elektrische Anschlüsse ... 126
Entlüften der Pumpe P-900 ... 34
Entlüftungsleitung ... 126
Ergebnisdatei
  Scouting ... 100
Ersatzteile ... 171
  Anschlüsse ... 175, 176
  Kabel ... 173
  Kapillaren ... 174
  Leitfähigkeitszelle ... 172
  Mischer M-925 ... 173
  Pumpe P-901 ... 171
  Pumpe P-903 ... 171
  UV-Durchflusszelle ... 172
  Ventil INV-907 ... 173
Erstellen einer Methode ... 55
Evaluation Procedures ... 76

F
Fehler und Maßnahmen ... 113
Fehlerbehebung ... 113
  BufferPrep ... 120
  Druckkurve ... 115
  Leitfähigkeitskurve ... 115
  Mischer M-925 ... 119
  Pumpe P-900 ... 117
  UPC-900-Monitor ... 118
  UV-Kurve ... 114
  Ventil ... 119
Fenster Run Setup ... 57
Flüssigkeitsführende Teile ... 167
Frac-920
  Installation ... 25
Frac-950
  Installation ... 27
  Präp-Modus ... 27
  Standardmodus ... 27
Fraktionen sammeln
  Durchflussfraktionierung ... 60
  Fraktionierung mit festem Volumen ... 60
  Peak-Fraktionierung ... 60
Fraktionierung mit festem Volumen ... 61
Fraktionierungsreihenfolge (Frac-950) ... 27
Fraktionssammler ... 140
  Installieren des Frac-920 ... 25
  Installieren des Frac-950 ... 27
Fraktionssammlung ... 60

G
Gradienten ... 91

H
Hardware-Anforderungen ... 166
Hochheben des Systems ... 112

I
Injektionsventil ... 64, 119
In-line-Filter ... 8, 176
    Auswechseln des Filters ... 140
Installationstest ... 32
Installieren der CU-950 ... 28
Installieren des Systems ... 18
Installieren von Fraktionssammlern ... 25

K
Kalibrierung ... 111
Kapillaren
    Auswechseln ... 130
    Empfehlung ... 142
    Überblick ... 132, 134
Kapillarensatz
    Austauschen ... 132
    Überblick ... 131
Komponenten
    Beschreibung ... 137
    Lage ... 8, 124

L
Leistungsaufnahme ... 165
Leitfähigkeitszelle ... 8, 138, 140, 164, 172
Letzte Prüfungen ... 73

M
Manuelles Füllen von Probenschleifen ... 64
Materialien, flüssigkeitsführend ... 167
Methoden
    Erstellen ... 55
Mischer M-925 ... 8, 139
    Fehlerbehebung ... 119
Mischkammer ... 8
Mischvolumina ... 91, 139
Module und Komponenten
    Lage ... 8
Monitor pH/C-900 ... 140
    Kalibrierung ... 96

N
Netzanschlüsse ... 128
Netzwerk-Anforderungen ... 166

P
Peak-Fraktionierung ... 61
pH-Durchflusszelle
Installation ... 23
pH-Elektrode
Betrieb ... 31
Einbau ... 23
pH-Scouting ... 97
Physikalische Daten ... 165
PID
Durchflussregelung ... 102
Optimieren der Parameter ... 104
pKa, echt und scheinbar ... 158
Probenaufgabe ... 63
Mit einer Probenschleife ... 64
Überblick ... 63
Probenschleifen
Vollständige Füllung ... 67
Pufferrezepte ... 160
Puffersubstanzen ... 154
Pumpe P-900 ... 8, 34, 137

R
Regelmäßige Wartung ... 105
Reinigen der Oberfläche des Systems ... 109
Reinigen des Systemströmungsweges ... 110

S
Säule hinzufügen (Scouting-Seite) ... 100
Säulen und Kapillaren ... 48
Säulenhalter ... 176
Schild mit den elektrischen Anschlusswerten ... 9
Schilder ... 9
Scouting
Ergebnisdatei ... 100
Scouting der Durchflussgeschwindigkeit ... 99
Scouting-Schema ... 100
Scoutingvariablen ... 99
Sicherheitsinformationen ... 9
Sicherheitsstandards ... 165
Sicherung ... 12, 128
Software-Anforderungen ... 166
Spezifikationen ... 161
Start protocol ... 59
Strömungsschema ... 130, 131
Strömungsweg ... 46, 129
Superloop ... 139
Anschließen ... 68
Beschreibung ... 68
Füllen ... 69
Systembeschreibung ... 45, 123
Systemvorbereitung
Austauschen des Kapillarensatzes ... 132

T
Technische Spezifikationen 161
Teilfüllung von Probenschleifen 66
Transportieren des Systems 112

U
UniNet-1 127
UniNet-2 127
UPC-900-Monitor 8, 138
    Fehlerbehebung 118
UV-900-Monitor 137, 162, 172
UV-Durchflusszelle 8, 138, 172
UV-Zelle 172

V
Variablenwert ändern 100
Ventil INV-907 ..... 8, 139
    Fehlerbehebung 119
Verändern der Parameter während eines Laufs 81
Verbrauchsartikel 171
Vollständige Füllung von Probenschleifen 67
Vorbereiten der Strömungswegkomponenten 71
Vorbereiten des Systems für einen Lauf 70

W
Wartung 105

Z
Zubehör 171

www.gehealthcare.com/lifesciences

GE Healthcare Bio-Sciences AB
Björkgatan 30
SE-751 84 Uppsala
Schweden

GE, Imagination at Work und das GE-Monogramm sind Warenzeichen der General Electric Company.

Drop Design, Capto, GSTPrep, GSTrap, HiLoad, HiPrep, HiTrap, HisPrep, HisTrap, MabSelect SuRe, Mini Q, Mini S, Mono Q, Mono S, Mono P, RESOURCE, SOURCE, Sepharyl, Sepharose, Superdex, Superose, Superloop, UNICORN, ÄKTA und ÄKTApurifier sind Warenzeichen von Unternehmen von GE Healthcare.

Microsoft und Windows sind entweder Marken oder eingetragene Marken der Microsoft Corporation in den USA und/oder anderen Ländern.

Teflon und Tefzel sind eingetragene Warenzeichen von E.I du Pont de Nemours and Company.

UniNet ist ein Warenzeichen von Custom Produkt Design Inc.

PEEK ist ein eingetragenes Warenzeichen von Victrecs Company.

Alle Güter und Dienstleistungen werden gemäß den Verkaufsbedingungen des Unternehmens in GE Healthcare verkauft, das sie liefert. GE Healthcare behält sich das Recht vor, in Abhängigkeit von behördlicher und vertraglicher Zustimmung, falls erforderlich, Veränderungen an hier aufgeführten Spezifikationen und Funktionen vorzunehmen oder das beschriebene Produkt jederzeit ohne Ankündigung oder Verpflichtungen einzustellen. Neueste Informationen erhalten Sie von Ihrem Vertreter von GE Healthcare vor Ort.

Die Abtrennung von Viruspartikeln mit Capto-Q-Produkten kann eine Lizenz unter der US-Patentnummer 6,537,793 B2 und ähnlichen Patenten und Patentanmeldungen von Centelion SAS in anderen Ländern voraussetzen. Eine solche Lizenz ist nicht im Kauf von Capto Q eingeschlossen, aber im Kauf von Capto-ViralQ-Produkten enthalten.
Mit dem Kauf von Capto ViralQ wird dem Kunden eine kostenlose unbegrezte Lizenz unter der US-Patentnummer 6,537,793 B2 und ähnlichen Patenten und Patentanmeldungen von Centelion SAS in anderen Ländern zur Abtrennung von Viruspartikeln ausschließlich unter Verwendung des gekauften Produktes erteilt.

UNICORN Die Nutzung dieser Software unterliegt dem Standardsoftware-Endbenutzerlizenzvertrag von GE Healthcare für Softwareprodukte von Life Sciences.

© 2006 General Electric Company – Alle Rechte vorbehalten.

GE Healthcare Bio-Sciences AB, ein Unternehmen der General Electric.

GE Healthcare Bio-Sciences AB
Björkgatan 30, SE-751 84 Uppsala, Schweden

GE Healthcare Europe GmbH
Munzinger Strasse 5, D-79111 Freiburg, Deutschland

GE Healthcare UK Ltd
Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire, HP7 9NA, UK

GE Healthcare Bio-Sciences Corp
800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, USA

GE Healthcare Bio-Sciences KK
Sanken Bldg. 3-25-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

Asien und Pazifik Tel.: +852 2811 8693 Fax: +852 2811 5251 • Australien Tel.: + 61 2 9899 0999 Fax: +61 2 9899 7511 • Belgien Tel.: 0800 73 888 Fax: 03 272 1637 • Dänemark Tel.: 45 16 2400 Fax: 45 16 2424 • Deutschland Tel.: 0761/4903-490 Fax: 0761/4903-405 • Finnland und Baltische Staaten Tel.: +358-(0)9-512 39 40 Fax: +358 (0)9 512 39 439 • Frankreich Tel.: 01 69 35 67 00 Fax: 01 69 41 96 77 • GB Tel.: 0800 616928 Fax: 0800 616927 • Italien Tel.: 02 27322 1 Fax: 02 27302 212 • Japan Tel.: +81 3 5331 9336 Fax: +81 3 5331 9370 • Kanada Tel.: 800 463 5800 Fax: 800 567 1008 • Lateinamerika Tel.: +55 11 3933 7300 Fax: +55 11 3933 7304 • Mittel-, Ost- und Südosteuropa Tel.: +43 1 982 3826 Fax: +43 1 985 8327 • Naher Osten und Afrika Tel.: +30 210 9600 687 Fax: +30 210 9600 693 • Niederlande Tel.: 0165 580 410 Fax: 0165 580 401 • Norwegen Tel.: 815 65 555 Fax: 815 65 666 • Österreich Tel.: 01/57606-1619 Fax: 01/57606-1627 • Portugal Tel.: 21 417 7035 Fax: 21 417 3184 • Russland und andere GUS-Staaten Tel.: +7 (095) 232 0250, 956 1137 Fax: +7 (095) 230 6377 • Schweden Tel.: 018 612 1900 Fax: 018 612 1910 • Schweiz Tel.: 0848 8028 12 Fax: 0848 8028 13 • Spanien Tel.: 93 594 49 50 Fax: 93 594 49 55 • Südosasien Tel.: 60 3 8024 2080 Fax: 60 3 8024 2090 • USA Tel.: 800 526 3593 Fax: 877 295 8102

imagination at work

Benutzerhandbuch 28-9192-39 AB Erster Druck 04/2006